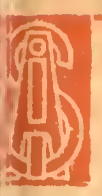



22500460596




ACTUALITÉS SCIENTIFIQUES ET INDUSTRIELLES

401

BIOPHYSIQUE MOLÉCULAIRE

Exposés publiés sous la direction de

P. LECOMTE DU NOÜY

Chef de Service à l'Institut Pasteur

I

LA TEMPÉRATURE CRITIQUE DU SÉRUM

I

VISCOSITÉ ET PHÉNOMÈNES OPTIQUES

PAR

P. LECOMTE DU NOÜY



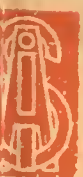
PARIS

HERMANN & CIE, ÉDITEURS

6, Rue de la Sorbonne, 6

—

1936






ACTUALITÉS SCIENTIFIQUES ET INDUSTRIELLES

PUBLIÉES SOUS LA DIRECTION DE MM.

René AUDUBERT
Directeur de Laboratoire à l'Ecole des Hautes Etudes
ÉLECTROCHIMIE THÉORIQUE

J.-P. BECQUEREL
Professeur au Muséum d'Histoire Naturelle
OPTIQUE ET MAGNÉTISME AUX TRÈS BASSES TEMPÉRATURES

G. BERTRAND
Membre de l'Institut
Professeur à l'Institut Pasteur
CHIMIE BIOLOGIQUE

L. BLARINGHEM
Me
Profes
BIOLC

Ge
Professeur

Directeur de l'
MIC

Directeur de
AST

Léo
Professeur
THÉOR

Loui
Membre de l'Institut
Professeur à la Sorbonne
Prix Nobel de Physique
I. PHYSIQUE THÉORIQUE
II. PHILOSOPHIE DES SCIENCES

Maurice de BROGLIE
de l'Académie Française et de l'Académie des Sciences
PHYSIQUE ATOMIQUE EXPÉRIMENTALE

D. CABRERA
Directeur de l'Institut de Physique et Chimie de Madrid
EXPOSÉS SUR LA THÉORIE DE LA MATIÈRE

E. CARTAN
Membre de l'Institut
Professeur à la Sorbonne
GÉOMÉTRIE

M. CAULLERY
Membre de l'Institut
Professeur à la Faculté des Sciences
BIOLOGIE GÉNÉRALE

L. CAYEUX
Membre de l'Institut
Professeur au Collège de France
GÉOLOGIE

ON
Institut
Sorbonne
PTIQUE

CURIE
Sorbonne
Physique
Chimie
IVITÉ
UCLÉAIRE

HAKOFF
iversité Columbia
k)
l'Institut
xpérimentale
nkino)
INALE DANS
L'ÉVOLUTION

OIS
Sorbonne
CHIMIE-PHYSIQUE

K. K. DARROW
Bell Telephone Laboratories
CONDUCTIBILITÉ DANS LES GAZ

Arnaud DENJOY
Professeur à la Sorbonne
THÉORIE DES FONCTIONS DE VARIABLE RÉELLE

J. DUESBERG
Recteur de l'Université de Liège
BIOLOGIE GÉNÉRALE EN RAPPORT AVEC LA CYTOLOGIE

CATALOGUE SPÉCIAL SUR DEMANDE

ACTUALITÉS SCIENTIFIQUES ET INDUSTRIELLES

401

BIOPHYSIQUE MOLÉCULAIRE

Exposés publiés sous la direction de

P. LECOMTE DU NOÜY

Chef de Service à l'Institut Pasteur

I

LA TEMPÉRATURE CRITIQUE DU SÉRUM

I

VISCOSITÉ ET PHÉNOMÈNES OPTIQUES

PAR

P. LECOMTE DU NOÜY



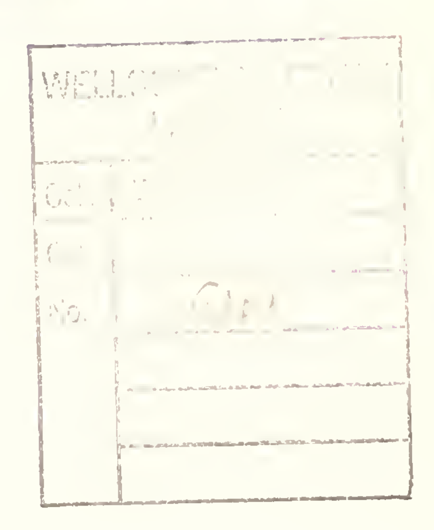
PARIS

HERMANN & C[IE], ÉDITEURS

6, Rue de la Sorbonne, 6

—

1936





PRÉFACE

Les recherches exposées dans ce livre ne peuvent en aucune façon être considérées comme définitives. Elles ont apporté un certain nombre de faits nouveaux qui éclairent des problèmes fondamentaux reliés au mécanisme de l'immunité et des réactions d'immunité. Elles ont transposé ces problèmes dans une autre région de la science. Elles ont posé des questions nouvelles. Elles ont montré qu'une étude systématique du sérum basée sur des hypothèses de travail logiques permettait de révéler des faits qui, jusque-là, étaient restés dans l'ombre. Chacun de ces faits peut maintenant, à lui seul, faire l'objet de nouvelles recherches dans le même sens, ou dans une direction plus spécifiquement chimique. Nous n'avons pas eu l'intention ni la prétention, en les publiant, de fournir des réponses, mais plus simplement d'ouvrir des portes sur des champs d'investigation encore inexplorés.

Tous les problèmes biologiques et médicaux comportent des éléments de nature physico-chimique que l'on a trop négligés jusqu'ici. On a découvert une quantité de faits si importante que le temps matériel a manqué pour les étudier soigneusement un à un. Non seulement le temps a manqué, mais les hommes, car il aurait fallu, au fur et à mesure de la découverte de ces faits, les confier à des physico-chimistes purs. Ainsi, le terrain conquis eût été consolidé progressivement, grâce à cette collaboration idéale sans laquelle un progrès continu est impossible. On se trouve donc aujourd'hui devant un amas inextricable d'observations plus ou moins bien faites, accumulées sans ordre et sans méthode. Il sera long et malaisé d'établir des relations entre tous ces éléments, et plus l'on tardera, plus la tâche sera ardue. Pour

bien faire, il faudrait un organisme centralisateur, comparable aux chambres de compensation de la finance, où un tri et un début de classement serait effectué. Mais la distribution du travail soulèverait alors d'autres problèmes difficiles à résoudre.

Cependant, faute d'une vue d'ensemble et d'une organisation matérielle conçue dans ce but, les problèmes de l'immunité et bien d'autres encore, marqueront le pas pendant longtemps. Non pas tant à cause de notre ignorance, qu'en raison de la dispersion des compétences et de l'absence de coordination et de coopération efficace entre les différentes disciplines.

INTRODUCTION

Lorsque le sang est recueilli, au sortir des vaisseaux d'un animal vivant, il se coagule sous forme de gelée. Ce coagulum à base de fibrine se contracte, emprisonne les globules rouges et blancs et laisse exsuder un liquide citrin qui constitue le sérum.

Toute la fibrine demeurant dans le caillot, on admet que le sérum représente le sang total moins la fibrine et les éléments figurés. Le plasma se différencie du sérum parce qu'il contient la fibrine, ou plus exactement le fibrogène qui, pendant la coagulation, se transformera en fibrine.

L'étude des propriétés physiques et physico-chimiques du sérum a fait l'objet d'un nombre important de travaux. Brocq-Rousseu et Roussel [1] dans leur bibliographie — qui n'est plus complète aujourd'hui — citent 1.321 mémoires et ouvrages. Les travaux chimiques se compteraient par milliers.

En dehors de la valeur statistique des résultats obtenus et de l'intérêt discutable qu'il peut y avoir à posséder un nombre imposant de données numériques correspondant aux propriétés physiques d'un liquide biologique qui n'existe pas en réalité, le sérum dit « normal », et à certaines rares exceptions près, ces travaux ne conduisent pas à des résultats importants. Seuls, un petit nombre d'expérimentateurs, parmi lesquels je citerai Ascoli, Izar, Zunz et Vlès, avaient, jusqu'en 1923, effectué quelques recherches systématiques couronnées de succès, mais où les propriétés du sérum étaient plutôt considérées comme l'expression d'un état physiologique ou pathologique que comme un problème en soi.

(1) *Le sérum normal*, Masson, Paris, 1931.

Dès 1920, nous conçûmes le projet d'étudier le sérum en tant que liquide complexe, fragile, en évitant toute manipulation brutale capable de masquer les propriétés que nous cherchions à définir. Nous nous proposâmes d'examiner les mécanismes des phénomènes dont il est le siège et d'essayer de jeter quelque lumière sur les réactions fondamentales encore si mystérieuses qui sont précieuses en médecine, en particulier pour le diagnostic des maladies infectieuses.

Pour ce faire, il était nécessaire d'admettre la définition classique du sérum « normal » : sérum d'un animal en bonne santé n'ayant été soumis à aucune injection immunisante. Mais il était également nécessaire d'éliminer les innombrables facteurs individuels connus ou inconnus qui affectent quantitativement toutes les mesures. Une méthode générale qui présentait un avantage énorme et un léger inconvénient s'imposait à nous. Cette méthode consiste à toujours étudier un sérum « cinématiquement », si l'on peut dire, et non statiquement, c'est-à-dire à remplacer la notion de *valeur moyenne* (représentée par un point en coordonnées cartésiennes) par la notion de variations de cette valeur en fonction d'un facteur connu, variations qui s'expriment par une courbe.

Par exemple, au lieu de mesurer la tension superficielle de cent sérums d'animaux normaux d'une espèce donnée, d'additionner toutes ces valeurs, et de diviser le total par 100 pour obtenir la moyenne arithmétique, on étudiera les variations de la tension superficielle en fonction du temps, ou de la dilution, ou de la température, en maintenant tous les autres facteurs constants. Si l'expérience s'effectue en fonction du temps (variable), la dilution et la température seront constantes. Une seconde série de mesures sera effectuée de la même manière, mais en partant d'une dilution différente. Successivement, toutes les dilutions seront étudiées en fonction du temps, à température constante, de sorte que, de l'ensemble des courbes obtenues, on pourra déduire l'influence de la dilution et de la température. On agira de même à des températures différentes, en répétant chaque fois toute la série des expériences, et on connaîtra finalement les caractéristiques du sérum étudié pour chaque dilution et pour chaque température, en fonction du temps. Comme on ne peut immobiliser le temps, on en est réduit quand on veut l'éliminer,

soit à agir vite et à admettre que l'influence du temps devient négligeable, soit à lui donner identiquement la même valeur dans chaque expérience. Son influence, étant la même, affecte l'ensemble du phénomène en déplaçant la courbe entière, mais sans changer son allure, sa forme qui est l'objet de la recherche.

Tous les sérums étant soumis à la même série d'expériences, on obtiendra des courbes qui, suivant les individus seront plus hautes ou plus basses par rapport à l'axe des ordonnées, mais dont l'allure en fonction de la variable sera sensiblement la même. Si l'on constate un écart individuel important, c'est l'indice d'un déséquilibre certain qui pouvait échapper à l'attention dans le cas d'une seule mesure, mais qui a de bien plus grandes chances de se manifester quand les conditions sont progressivement et systématiquement variées.

Enfin, chaque courbe étant le résultat d'expériences faites sur le même sérum, le résultat est homogène et possède un sens bien défini. On n'en peut dire autant d'un chiffre exprimant la moyenne des propriétés de plusieurs sérums. Par exemple, l'influence de l'immunisation sur la tension superficielle qui ne se fait pas sentir quand on effectue les mesures sur du sérum pur devient de plus en plus marquée quand le sérum est dilué progressivement, et atteint une valeur maxima à une certaine dilution critique (1/11.000 pour le lapin), toutes autres conditions restant égales d'ailleurs. Ce phénomène avait passé inaperçu jusqu'au jour où nous avons appliqué la méthode en question [1]. Autre exemple : la viscosité spécifique « moyenne » du sérum de cheval a été déterminée par de nombreux expérimentateurs. L'un donne comme valeur (à 20°) 1,6 ; un autre 1,7 ; un troisième 1,8 ; un quatrième 1,55. La « moyenne des moyennes » donne 1,66. Ce chiffre n'a aucun intérêt. La seconde décimale est absolument illusoire. Les moyennes données par les auteurs diffèrent parce que les chevaux n'appartenaient pas à la même race, qu'ils étaient nourris différemment, saignés à des heures différentes, parce que, surtout, la précision des méthodes laissait, en général, à désirer. Si l'on étudie au contraire, comme nous l'avons fait, les *varia-*

[1] Lecomte du Noüy, *J. of Exp. Med.*, **37**, 659 (1923) ; **40**, 129 (1924) ; **41**, 779 (1925) etc. et dans *Equilibres superficiels des solutions colloïdales*, p. 130 (Masson, 1929).

tions de la viscosité du sérum de cheval en fonction de la température, de façon continue, on observe qu'il présente un minimum absolu de viscosité vers 56°, et qu'au-dessus de cette température la viscosité augmente rapidement. Ceci est plus intéressant car nous savons par ailleurs que 56° est la température qui correspond à la « destruction du complément », propriété biologique importante qui se trouve ainsi reliée à un phénomène physique très net.

On s'aperçoit également que le sérum d'un grand nombre d'animaux d'espèces différentes, et celui de l'homme, possèdent la même caractéristique qui ne se retrouve pas dans les solutions colloïdales courantes : gélatine, gomme arabique, etc. C'est donc un phénomène général caractérisant le sérum sanguin, que la méthode cinétique a révélé.

Le principe de la méthode entraînait également la nécessité de l'étude de l'influence du temps de chauffage : les résultats — que nous examinerons plus loin — furent également intéressants et imprévus. La méthode est donc d'une grande généralité puisque, dans certains cas, elle peut effacer, non seulement les différences individuelles, mais encore les différences d'espèce.

Les objections immédiates qu'on peut faire sont les suivantes: l'application de cette méthode exige un nombre énorme de mesures, une accumulation de matériaux considérable. Chaque mesure, pour être soignée, réclame du temps. Une existence humaine n'y suffira pas. De plus, comme chaque courbe doit être l'expression des expériences faites sur le même sérum, il faut de grandes quantités de sang. Ceci est impraticable si l'on a affaire à de petits animaux.

Tout cela est vrai, ou plutôt était vrai au moment où nous nous sommes engagés dans ce travail (1920). Nous allons essayer de montrer de quelle façon il est possible de tourner les difficultés. Certes, il est nécessaire d'accumuler un grand nombre de mesures : ceci est vrai pour presque tous les travaux biologiques. Par conséquent, il faut pouvoir faire exécuter les mesures par des assistants non spécialisés, et il importe que les mesures puissent se faire rapidement, tout en fournissant les garanties les plus grandes de précision. Ceci impose donc, dès le début, des perfectionnements de technique tels que ces désiderata soient satisfaits. S'il suffit de 30 secondes au lieu d'une heure pour effectuer une

mesure de tension superficielle, on pourra, comme cela se passait dans notre laboratoire, faire au besoin 374 mesures par jour avec toutes les manipulations qu'elles comportent. Cela exige naturellement un équipement spécial, et une organisation, une rationalisation du travail. L'appareillage idéal doit donc être conçu dans le but de permettre des mesures rapides, sans sacrifier rien à la précision, et de se prêter au travail en série. Il est plus avantageux dans tous les cas, nous avons eu maintes fois l'occasion de nous en apercevoir, de passer quelques mois à réaliser et à mettre au point un appareil nouveau et une technique exactement adaptée à son problème, que d'attaquer la question avec un armement inadéquat. Le temps « perdu » est rapidement rattrapé et il reste en tous cas un perfectionnement technique qui pourra servir à d'autres.

D'ailleurs, il est bien évident que l'on ne passe que rarement tout son temps pendant le cours d'une journée ou d'une semaine, à mettre au point une méthode. Il existe toujours d'autres travaux en cours, et l'effort supplémentaire demandé, outre qu'il constitue en général une véritable distraction, est généralement récompensé par les résultats obtenus.

Nos premières recherches sur la viscosité, effectuées avec l'appareil d'Ostwald, dans un grand thermostat, demandaient environ une heure par mesure. Il nous fallait une mesure par degré de température entre 20° et 70°, soit à peu près 50 heures, ou cinq jours à raison de dix heures par jour. Nous avions besoin de 500 cc. de sérum. S'il provenait du même animal, il était vraisemblable qu'il n'était plus identique à lui-même au bout de ce temps. Et seul un grand animal, cheval ou bœuf, pouvait pratiquement nous en fournir une telle quantité. Pour le lapin, la poule, ou le cobaye, il fallait plusieurs animaux par jour. Quand notre nouvel appareillage fut terminé, nous faisions environ cent mesures en une heure et demie (de 20° à 70° et de 70° à 20° en refroidissant) avec un centimètre cube de liquide. L'appareil était sensible jusqu'à la cinquième décimale (unités C.G.S.). Aucune manipulation n'était nécessaire : l'opérateur, assis, inscrivait simplement les chiffres lus sur une échelle, à moins que l'enregistrement ne se fît automatiquement. Nous pûmes ainsi effectuer en quelques années environ 50.000 mesures sur toutes sortes de liquides sans interrompre les autres travaux du laboratoire. Le dessin,

la construction et la mise au point du nouveau viscosimètre demandèrent environ six mois.

Nous nous sommes à dessein étendus sur ces préliminaires afin de bien faire comprendre comment la création d'appareils nouveaux spécialement adaptés à l'étude des solutions biologiques, ou encore le perfectionnement, la modification d'instruments anciens dans le même but, puis la mise au point méthodique de techniques particulières destinées à économiser le temps et si simples qu'un assistant quelconque puisse les employer, constituait *la base nécessaire de la méthode que nous avons employée*. En somme, nous n'avons pas fait autre chose que de transposer au laboratoire les principes appliqués dans l'industrie de plus en plus couramment depuis le début du siècle. La standardisation et la rationalisation, la taylorisation des usines ont pour but la diminution du prix de revient par la production en grande série qui est basée sur l'emploi de calibres de haute précision. Notre effort a tendu vers l'augmentation du nombre des mesures et l'accroissement de leur précision en éliminant autant que possible, soit le facteur individuel, soit les manipulations où ce facteur risquait d'intervenir. Ceci nous a entraînés parfois à simplifier, plus généralement à compliquer les instruments, mais toute complication était motivée par une simplification dans son emploi et une plus grande garantie de rigueur dans les mesures.

Lorsqu'il s'agit de multiplier des mesures d'une certaine nature, on s'aperçoit en général que ce n'est pas tant la mesure en elle-même qui consomme du temps, que l'ensemble des manipulations qui la précèdent et qui la suivent : nettoyage et stérilisation des vases contenant les liquides, préparation des solutions rigoureusement dosées, transvasement dans les récipients spéciaux, attente nécessaire pour atteindre l'équilibre (température, adsorption, potentiel, etc.) puis, après la mesure, remise en état des appareils pour l'exécution d'une seconde mesure. Dans certains cas la mesure prend une demi-minute ou même moins, mais la préparation de tous les éléments nécessaires à cette mesure réclame une journée entière et même davantage. Il est donc essentiel que le travail soit *organisé* de telle façon que les détails accessoires n'aient pas besoin d'être répétés pour chaque mesure, mais au contraire qu'ils soient prévus pour l'exécution d'un grand nombre de mesures identiques. Ceci entraîne forcément une rationalisa-

tion qui se rapproche beaucoup des méthodes industrielles, et qui permet de gagner un temps considérable, sans affecter en rien la précision.

Le seul inconvénient qu'on puisse reprocher à ce système est qu'il exige plus de verrerie, d'appareils, de place, et partant, d'argent. Mais outre que cela n'est pas toujours vrai, ce n'est pas une objection ; c'est une condamnation des organisations ou des hommes chargés de veiller aux destinées de la recherche scientifique dans un pays. Tout dépend du but qu'on se propose. Si l'on se satisfait de posséder des laboratoires de recherches pures désuets où le travail est lent et difficile, sans comprendre leur rôle au point de vue de la culture générale, du prestige intellectuel et sans être convaincu de leur valeur économique sans cesse grandissante, alors, on dépense toujours trop d'argent, puisque cet argent n'est pas utilisé avec son maximum de rendement. Si, par contre, on a honnêtement l'intention de faire progresser les connaissances humaines parce qu'on se doute que c'est finalement grâce à la science qu'on parviendra à enrayer des fléaux tels que les maladies infectieuses ou le cancer entre autres, alors, on ne dépense jamais assez d'argent. Tout dépend, en somme, de la valeur qu'on attribue à la vie humaine, à la santé, et au progrès de la connaissance.

*
* *

Lorsque nous nous sommes proposé d'étudier systématiquement les propriétés physiques et physico-chimiques du sérum sanguin pour tenter de mettre un peu d'ordre et de jeter quelque lumière sur la structure de ce complexe et sur les mécanismes réels des réactions d'immunité, nous ne nous dissimulions pas que la tâche était considérable et nous étions bien convaincus que notre existence n'y suffirait pas.

Quinze ans ont passé, et si les faits que nous avons découverts ont apporté la preuve que nous avions vu juste en pensant qu'une grande part de l'obscurité qui entourait ces phénomènes était due à notre ignorance des faits fondamentaux et aux erreurs de conception qu'elle entraînait, ils nous ont aussi amenés à la conviction que le travail accompli était négligeable vis-à-vis de ce qui restait à accomplir, et que tous les efforts seraient à peu près vains tant que la chimie des corps fragiles, la chimie à quatre

dimensions, en d'autres termes la chimie des protéines, n'aurait pas progressé.

Les deux expressions : chimie des corps fragiles et chimie à quatre dimensions peuvent, dans le cas des protéines, être considérées comme synonymes. En effet, si nous convenons d'appeler « corps fragile » un corps dont les propriétés ne sont pas stables en fonction du temps et varient d'un moment à l'autre, souvent de façon irréversible, nous sommes forcés d'introduire le temps comme quatrième dimension dans nos définitions mêmes. On a déjà dû introduire le temps dans la chimie des corps radioactifs qui se transforment perpétuellement l'un dans l'autre pour aboutir finalement à un état stable terminal, tel que le plomb dans la famille de l'uranium. Mais le problème est infiniment plus complexe dans le cas des protéines, immenses échafaudages de plusieurs milliers d'atomes, dont les poids moléculaires sont échelonnés entre 34.500 et 6.600.000, et qui, à aucun moment, ne sont chimiquement définis.

Ici, une observation s'impose. Quand nous parlons de la fragilité des protéines, c'est de la fragilité de l'ensemble qu'il s'agit, et non pas de celle des éléments constitutifs qui sont des groupes chimiques déterminés, doués au contraire d'une grande stabilité. De même que dans une construction enfantine édifiée au moyen de blocs solides et représentant une maison ou une église, la fragilité naît et s'accroît au fur et à mesure que le bâtiment se complique. Les propriétés physico-chimiques et biologiques d'une protéine dépendent parfois des groupes stables, mais fréquemment aussi de leurs combinaisons, qui sont de plus en plus instables à mesure que le nombre de groupes combinés augmente. On peut donc, grossièrement, distinguer deux sortes de propriétés dans une molécule de protéine : 1° les propriétés chimiques dues à la nature de certains éléments composants stables (spécificité entre autres), et 2° les propriétés physico-chimiques et biologiques moins bien définies qui naissent de l'*accouplement* stéréochimique d'un nombre plus ou moins grand de groupes chimiques stables (pouvoir antigénique?).

La façon dont réagissent les groupes d'où dépend la spécificité, par exemple, n'est pas simple et est conditionnée par leur liaison chimique à d'autres groupes bien plus complexes, qui sont doués du pouvoir antigénique dont les premiers sont dé-

pourvus. Les premiers (haptènes) ne servent qu'à orienter spécifiquement des réactions qui seraient impossibles sans la présence des seconds et sans la combinaison chimique de ces deux éléments. Tout au moins est-ce, à l'heure actuelle, la façon dont on peut concevoir ces phénomènes. De la combinaison naissent des propriétés et une fragilité nouvelles.

De l'ensemble de notre travail — dont la substance est condensée dans une trentaine de mémoires et un livre — deux sortes de résultats se dégagent : d'une part les résultats matériels nouveaux, purement expérimentaux et qui constituent un groupe de phénomènes indépendants, faciles à reproduire, d'ailleurs souvent contrôlés, mais sans lien apparent entre eux, sauf dans certains cas ; et d'autre part, les conclusions que nous en avons tirées. Cette interprétation raisonnée, souvent basée sur des relations quantitatives, est hypothétique, à coup sûr, mais emprunte un caractère de probabilité important au fait que l'hypothèse maîtresse permet d'établir un lien cohérent entre tous les faits observés qui découlent alors logiquement les uns des autres. En d'autres termes, cette hypothèse, qui s'est montrée fructueuse puisqu'elle nous a suggéré de nombreuses expériences, transforme une succession de points en une courbe régulière et continue. Chaque phénomène perd son indépendance par rapport aux autres, il devient un des aspects du phénomène fondamental et son individualité se fond dans celle de la courbe qui représente une évolution globale. Comme outil de travail, cette hypothèse fut précieuse. Elle nous semble à tous points de vue plus plausible et plus efficace que l'hypothèse classique qu'elle remplace et qui est incapable, elle, d'expliquer et de coordonner les faits nouveaux, ainsi que nous allons le montrer.

L'hypothèse classique est celle du sérum colloïdal. L'hypothèse nouvelle, celle du sérum moléculairement dispersé, comprenant albumine, globulines, lipides, etc., en solution vraie, soit à l'état de combinaisons plus ou moins fragiles, soit à l'état libre. Nous avons cru pendant longtemps que la majorité des protéines existaient sous forme d'une grosse « molécule de sérum ». Les dernières expériences faites au laboratoire de Svedberg indiquent au contraire que, si la dispersion est bien moléculaire, comme nous l'avons admis, il existe quatre groupes distincts de molé-

cules, dont deux en quantité bien supérieure aux autres [1].

Dans le premier cas, les substances constituant le sérum devraient en partie leurs propriétés à leur état d'agrégation sous forme de micelles. Dans le second cas, ces mêmes propriétés seraient dues à leurs valences et à leur structure chimique dans l'espace, ainsi qu'aux propriétés physiques et physico-chimiques qui sont les conséquences de leur nature et de leurs dimensions moléculaires. A aucun moment il ne se produirait, dans les conditions normales, d'agrégation. Les protéines — ou plutôt les

[1] P. v. MUTZENBECHER, *Biochem. Zeit.*, **266**, 226 (1933). Je résume rapidement ici les principaux résultats obtenus.

Les recherches effectuées par cet auteur au moyen de la méthode d'ultracentrifugation l'ont conduit à admettre que les sérums du cheval et de l'homme contiennent quatre molécules différentes en proportions variées dont les constantes de sédimentation sont : 4,5 ; 6,8 ; 9 ; 17.10^{-13}.

Les deux premières, qui se trouvent en quantité plus grande correspondent aux albumines et aux globulines du sérum ; les deux dernières, à des molécules plus grosses, qui ne se trouvent qu'en faible quantité.

Dans le sérum non dilué et vieux l'auteur a mis en évidence la présence de molécules deux fois plus petites que les albumines.

Dans le sérum dilué à l'aide d'une solution isotonique on put prouver l'existence de molécules encore plus petites, dont le nombre augmente avec le temps. Ces éléments proviennent probablement de clivages.

Le rapport globuline-albumine change aussi avec la dilution, dans le sens d'une augmentation de la quantité relative des globulines. Cette augmentation apparente est peut-être due au fait que, dans le sérum non dilué, les globulines forment des complexes d'association dont le nombre est pourtant trop restreint pour qu'on l'observe par l'ultracentrifugation. (Il est possible, comme je l'écrivais en 1930 [*Revue Scientifique*, 8 février 1930, p. 66] qu'un équilibre existe entre les grosses molécules complexes et leurs éléments plus petits, et que les propriétés moyennes du sérum correspondent au sommet d'une courbe de Gauss en cloche.)

Biochem. Zeit., **266**, 250 (1933).

Les globulines du sérum obtenues par précipitation avec du sulfate d'ammonium demi-saturé sont polydispersées. La plus grande partie est formée par des molécules ayant un poids moléculaire d'environ 138.000.

L'albumine sérique obtenue par dialyse de la « Gesamt albumine » est presque monodispersée (il y a une petite quantité de molécules plus petites). L'albumine sérique précipitée par du sulfate d'ammonium saturé contient des produits d'association de plusieurs molécules.

Dans toutes les préparations d'albumine on a trouvé pour la molécule principale une constante de sédimentation de $4{,}5.10^{-13}$ (correspondant à $P_m = 69.000$).

Biochem. Zeit., **266**, 259 (1933).

Si on ajoute au sérum des quantités croissantes de sulfate d'ammonium, on constate l'apparition de petites molécules, dont la quantité augmente avec la concentration en sulfate.

L'électro-dialyse entraîne une association partielle des protéines qui peut être réversible ou non réversible.

ensembles protido-lipidiques dont nous avons parlé — seraient et resteraient dispersées moléculairement, en solution vraie.

La première hypothèse ferme la porte à la spécificité chimique du sérum ou du plasma. La seconde, au contraire, ouvre les horizons les plus vastes à cette spécificité et permet d'introduire en biologie l'idée si riche et si féconde d'adsorption monomoléculaire orientée que nous avons soutenue depuis 1923.

Étant donné qu'une partie de notre travail expérimental — celle qui a trait à l'adsorption orientée — a déjà été développée dans un ouvrage précédent [1], nous nous bornerons à la résumer très rapidement. Au contraire, nous nous étendrons en détails sur les travaux postérieurs qui furent effectués à l'Institut Pasteur, de 1927 à 1935, et qui sont étroitement liés aux problèmes fondamentaux de la nature de l'alexine, de la sensibilisatrice et du mécanisme du pouvoir complémentaire.

[1] Lecomte du Noüy, *Surface Equilibria of biological and organic colloïds*, New-York, 1926, et *Equilibres superficiels des solutions colloïdales* (Monographie de l'Institut Pasteur, Paris, Masson, 1929).

CHAPITRE II

Adsorption. Couches monomoléculaires
Rappel succinct des expériences antérieures

Ainsi que nous l'avons indiqué plus haut, on peut diviser l'ensemble de nos recherches sur le sérum en deux groupes distincts : le premier conduit à la notion de « molécules de sérum » polaires, orientables, adsorbables en couche monomoléculaire aux interfaces. Le deuxième, à des précisions beaucoup plus grandes sur ces molécules, qu'on démontrera être asymétriques, anisotropes, capables de s'hydrater irréversiblement par fixation d'eau intramoléculaire, déformables et ne s'accolant pas par chauffage.

Le premier groupe explique la différence entre les réactions *in vivo* et *in vitro* par l'introduction de la notion de catalyse par action de surface dans les cellules et les organes ; le second étudie la coagulation par la chaleur, la nature chimique de la destruction de l' « alexine » par le chauffage à 56°, et montre la différence chimique entre ce phénomène et celui de la destruction de la « sensibilisatrice » à 66°.

Quand bien même le lecteur ne s'intéresserait pas à notre hypothèse ou n'approuverait pas notre interprétation des phénomènes il trouvera, nous l'espérons, dans l'exposé des expériences et des faits nouveaux qui va suivre, des éléments en nombre suffisant pour éclairer sa religion et, au besoin, lui permettre d'édifier une nouvelle théorie qui le satisfera mieux que la nôtre.

*
* *

Le phénomène fondamental du premier groupe est le mini-

mum absolu de tension superficielle du sérum dilué dans la solution physiologique. Les phénomènes accessoires sont :

A. Le déplacement du minimum de tension superficielle en fonction du rapport S/V de la surface d'adsorption au volume de la solution;

B. Les anomalies dans la vitesse d'évaporation des solutions de sérum ;

C. L'aspect des cristaux de NaCl de la solution, après évaporation à la concentration critique correspondant à un rapport S/V déterminé.

Rappelons brièvement en quoi consistent ces phénomènes, déjà décrits ailleurs (1).

A. Minimum et déplacement du minimum

Quand on mesure la tension superficielle statique, c'est-à-dire au bout d'un temps suffisant pour que l'équilibre d'adsorption soit atteint, du sérum (de lapin) dilué aux environs de 1/10.500 dans une solution isotonique, on observe un minimum absolu de la tension, à condition que la mesure soit faite dans des vases dont le rapport S/V soit égal à 13,2 (verres de montre calibrés et 2 cc. de solution). Dans ces conditions, l'épaisseur de la couche de protéines adsorbées est voisine de 4 mµ ou 40 Ångströms. Quand on change la valeur du rapport S/V, ce qui revient à dire qu'on augmente ou qu'on diminue la surface tout en laissant le volume (donc le nombre de molécules) constant, l'épaisseur moyenne de la couche adsorbée ou plus exactement le nombre de molécules adsorbées par unité de surface, varie, et entraîne une variation dans la tension superficielle qui est minima quand la couche adsorbée est exactement monomoléculaire et sans solution de continuité, c'est-à-dire à l'état de film homogène. Si l'on fait varier simultanément la concentration et le rapport S/V, on conçoit qu'on doit pouvoir retrouver la valeur minima déjà observée si l'on offre toujours la même surface d'adsorption disponible au même nombre de molécules. C'est ce que nous avons confirmé par l'expérience non seulement avec les pro-

(1) Lecomte du Noüy, *Equilibres superficiels des solutions colloïdales.*

téines mais avec les molécules d'oléate de soude. Or, ceci n'est compréhensible que si chaque molécule occupe dans la même position toujours le même espace, c'est-à-dire si elle est capable de s'orienter en couche monomoléculaire, organisée géométriquement en mosaïque régulière, comme des prismes de liège identiques serrés les uns contre les autres et flottant sur l'eau. C'est aussi, semble-t-il, la seule explication plausible du minimum absolu de tension superficielle.

B. Anomalies dans la vitesse d'évaporation des solutions diluées de sérum

Quand des solutions de sérum sont abandonnées dans des verres de montre de rapport S/V égal à 13,2, à la température ordinaire, on constate que la solution au 1/10.000 est plus lente à s'évaporer que d'autres, au 1/10e, 1/100e, 1/1000e, et 1/100.000^e. L'explication que nous avons proposée de ce phénomène repose sur la même hypothèse que ci-dessus, à savoir l'existence à cette concentration d'une couche molaire orientée (ou monocouche) qui freine, par sa structure homogène, solide, l'échappement des molécules d'eau. Ceci tendrait à prouver que l'organisation de la couche adsorbée n'est parfaite que lorsqu'elle est unique, et non pas superposée à d'autres couches sous-jacentes trop nombreuses.

C. Aspect des cristaux de NaCl après évaporation

Leur aspect est tout différent dans le cas du sérum immunisé dilué aux environs du 1/10.500^e de celui que présentent les cristaux abandonnés par des solutions plus ou moins concentrées. A cette concentration critique (la valeur du rapport S/V étant toujours égale à 13,2) on observe des cristaux en forme d'arêtes de poisson qui indiquent la présence de forces capables d'orienter les molécules cristallines. Le même phénomène se retrouve avec l'oléate de soude, à des dilutions correspondant, dans les mêmes conditions expérimentales, à l'apparition de couches monomoléculaires (1/750.000^e). L'explication de ce phénomène ne peut se trouver que dans un état d'orientation des molécules adsorbées.

On se rend aisément compte que l'hypothèse d'une solution

purement colloïdale de protéines, sous forme de micelles isotropes, non polaires, donc incapable de s'orienter ni d'orienter les molécules cristallines présentes, ne permet d'expliquer aucun des phénomènes ci-dessus, ni d'ailleurs aucun des phénomènes remarquables découverts par Devaux (hémimonillabilité entre autres), qui étudia d'autres protéines. L'hypothèse des molécules en solution vraie permet au contraire de les expliquer et, dans certains cas (déplacement du minimum), de calculer et de prévoir les faits quantitativement lorsque les conditions des expériences sont modifiées de façon connue. Nous verrons plus loin l'importante conséquence qu'on en peut déduire.

Nous pouvons ajouter que l'épaisseur calculée pour la couche molaire des protéines du sérum est en accord satisfaisant avec celle calculée par Fricke pour l'épaisseur de la « membrane » des globules rouges, soit 33 au lieu de 35 Ångströms (3,3 mμ au lieu de 3,5 mμ).

CHAPITRE III

Etudes sur la viscosité du sérum sanguin et sa température critique. Appareillage. Technique Interprétation des résultats

La mesure de la viscosité des solutions colloïdales se heurte à de grandes dificultés si l'on a recours aux méthodes basées sur l'emploi d'un tube capillaire. Certaines de ces méthodes, portées à un haut degré de perfection par de nombreux investigateurs, sont d'une grande sensibilité et d'une haute précision, lorsqu'on dispose d'importantes quantités de liquide, que la température est rigoureusement contrôlée, que le diamètre des capillaires est exactement connu, que la pression qui agit sur le liquide est constante et faible, etc..., et enfin, que la solution n'est pas colloïdale ou à grosses molécules.

Dans le cas contraire (solutions dites colloïdales) d'excellentes mesures ont néanmoins été réussies (Loeb, Northrop, Kunitz) au prix de grandes difficultés techniques. Lorsqu'on parvient en vainquant ces difficultés, à effectuer de bonnes mesures, en admettant que l'on dispose d'une quantité de liquide suffisante pour négliger l'adsorption sur les parois du verre, on ne peut en aucun cas tenir compte de l'action du temps sur une solution, et chaque mesure, à une température donnée, est fort longue. Supposons, par exemple, qu'une mesure demande une demi-heure. D'une part, il faut admettre qu'au début et à la fin de la mesure, la viscosité est la même, et n'a subi aucune variation durant ce temps (d'où impossibilité de suivre la marche d'une réaction par les variations que subit la viscosité) et, d'autre part, si l'on veut étudier le phénomène en fonction de la température, par exem-

ple, il faut disposer de plusieurs jours, et l'on sait que l'instabilité des solutions colloïdales physiologiques, en particulier du sérum, ne permettrait pas d'affirmer que son état physico-chimique n'a pas varié entre deux mesures. Il nous a donc paru nécessaire d'étudier un modèle de viscosimètre qui échapperait à ces contingences, et permettrait, en agissant sur une petite quantité de liquide de l'ordre de 1 cent. cube de faire des mesures extrêmement précises, mais instantanées, si l'on peut dire, et grâce auquel l'action du temps ou de la température pourrait être suivie sans aucune difficulté. Nous ne nous étendrons pas sur cet appareil qui a été construit dans nos laboratoires à l'Institut Rockefeller, dont la description a paru en 1923 (1). Nous nous bornerons à rappeler qu'il est basé sur le principe des cylindres coaxiaux ; le cylindre extérieur sert de récipient pour le liquide et est entraîné à faible vitesse constante, tandis que le cylindre intérieur, ou plongeur, est suspendu à un ruban fin et porte un miroir et un dispositif d'amortissement efficace. L'ensemble est immergé dans un bain d'huile, contenu lui-même dans une enceinte à double paroi où circule l'eau provenant d'un thermostat. Le principe sur lequel repose le maintien de la température constante a été décrit dans l'article cité plus haut, nous n'y reviendrons donc pas. Une résistance immergée dans l'huile permet de faire croître la température de façon constante, suivant un certain gradient, dans le cas où l'on étudie la viscosité en fonction de la température. Les appareils de contrôle du moteur et de la température se trouvent, avec l'échelle transparente, sur une table séparée, à 1 mètre 50 de l'appareil lui-même (2).

Expériences (3)

Les expériences ci-dessous ont été faites avec du sérum de lapin normal, sauf celles qui sont spécifiquement désignées comme exécutées avec le sérum d'un autre animal. Nous avons

(1) Lecomte du Noüy, *Journ. Gen. Physiol.*, **5**, p. 429, 1923, et *Méthodes physiques en biologie et en médecine* (Baillère, Paris, 1933).

(2) Tout récemment, nous avons, avec la collaboration du Dr Verain et de M. Chaix, perfectionné cet instrument dont l'échelle de sensibilité est maintenant considérablement augmentée.

(3) Lecomte du Noüy, *Ann. Inst. Pasteur*, **42**, p. 742, 1928 ; et *J. Gen. Physiol.*, **12**, p. 363, 1929.

effectué 167 séries d'expériences, dont 130 à l'Institut Rockefeller de New-York et 37 à l'Institut Pasteur, ce qui représente 17.000 lectures qui auraient demandé 17.000 mesures séparées avec toute autre méthode. Dans le cas présent, une série d'environ 100 à 150 lectures de 20 à 70° (température croissante), et de 70 à 20° (refroidissement), représente en moyenne une heure et demie d'observation. Étant donné que la lecture se fait sur une échelle graduée, au moyen d'un spot lumineux, sans aucune manipulation, les expériences se font sans fatigue ni difficulté. En envoyant un courant de 1 ampère dans la résistance immergée la température monte de 20 à 70° en quarante-cinq minutes environ.

Au lieu de publier les protocoles d'expériences, dont la lecture est fastidieuse, nous préférons publier les courbes qui les représentent et qui permettent d'embrasser l'évolution du phénomène d'un seul coup d'œil. Néanmoins nous donnons ci-dessous quelques protocoles d'expériences courtes afin de permettre au lecteur de se rendre un compte exact d'une expérience type.

TABLEAU I. *Sérum n° 58*

Viscosité en fonction de la température, d'un sérum de lapin normal, dix-neuf heures après exsudation.

Les chiffres sont arbitraires et représentent les lectures sur l'échelle, mais sont proportionnels à la viscosité absolue.

Température . .	24,2	26	28	30	33	35	38	40
Viscosité	410	425	416	402	380	367	316	333
Température . .	42	45	47	47	50	51	52	53
Viscosité . . .	320	302	295	266	278	275	270	266
Température . .	54	55	56	56,5	57	58	59	59,5
Viscosité	263	260	257	257	256	255	255	257
Température . .	60	61	62	62,5	63	65	67	68
Viscosité	257	261	266	270	275	293	312	310
Température . .	69	70	1 minute à 70			2 minutes à 70		
Viscosité	350	385	415			525		

(Fluctuations vers 68°)

Durée de l'expérience : quarante-trois minutes.

Tableau II. *Sérum n° 58*

Viscosité en fonction de la température du même sérum vieux de trois jours.

Température . .	23,1	24	25	27	29	30	32	35
Viscosité	450	440	433	422	410	402	381	368
Température . .	37	39	41	42	44	45	47	49
Viscosité	357	347	328	315	310	303	292	281
Température . .	50	51	52	53	53,5	54	55	56
Viscosité	276	273	270	266	62	265	260	260
Température . .	57	58	59	60	61	61	62	62,5
Viscosité	257	256	254	259	264	262	262	270
Température		63	64	65	67	68	69	70
Viscosité		272	279	285	298	314	335	390
Température		1 minute		2 minutes		3 minutes à 70		
Viscosité		423		453		495		

Fluctuations vers 58 et 63.
Durée de l'expérience : quarante-cinq minutes

Tableau III. *Sérum n° 58.*

Viscosité en fonction de la température du même sérum chauffé pendant quinze minutes à 55° en tube scellé, même date.

Température	25	27	29	31	33	35	37	39
Viscosité	446	432	416	403	387	372	358	343
Température	41	43	45	47	49	50	51	52
Viscosité	328	314	302	291	280	275	271	268
Température	53	54	55	56	57	58	59	60
Viscosité	266	263	259	257	254	252	251	251
Température	61	62	63	65	67	68	69	70
Viscosité	253	258	264	277	290	300	350	370
Température	1 minute		2 minutes		3 minutes		4 min. à 70	
Viscosité	395		420		447		472	

Durée de l'expérience : quarante-trois minutes.

L'aspect de la courbe (fig. 1, 2, 3) révèle immédiatement l'existence d'un point critique, un minimum absolu de la viscosité, situé aux environs de 56°, que nous avons déjà signalé précédemment.

Or on sait que cette température correspond précisément à

certains phénomènes connus en biologie et à la disparition de certaines propriétés du sérum (complément). Tous les sérums étudiés jusqu'à ce jour se sont comportés de la même façon. La

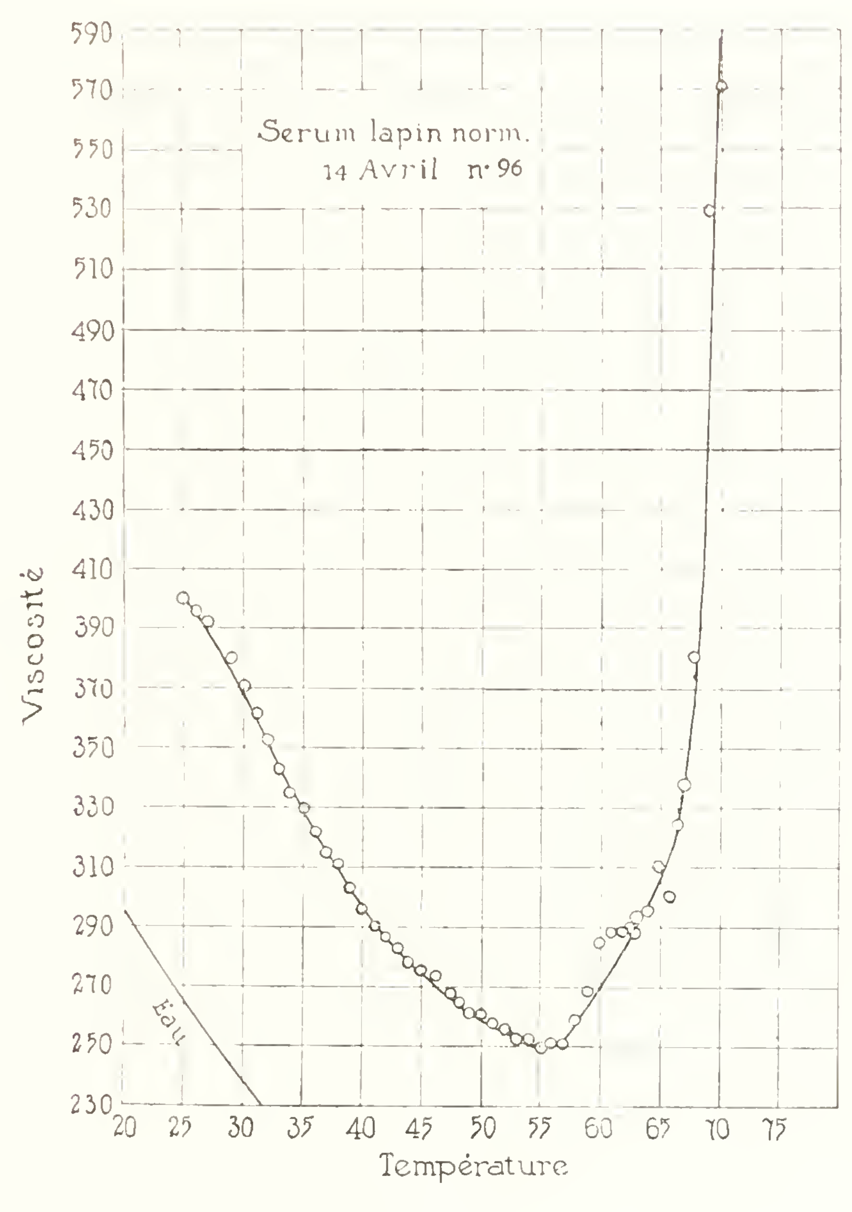


Fig. 1.

figure 2 exprime les résultats obtenus avec deux sérums de cheval normal.

Il est à remarquer que les ordonnées ne correspondent pas à celles de la figure 1, parce que ce sérum de cheval étant plus visqueux que celui du lapin (lapin normal, en moyenne $\eta_s = 1,62$, cheval normal, en moyenne $\eta_s = 1,80$, η_s = viscosité spécifique ou rapport de la viscosité absolue de la solution à celle de l'eau), le

réglage de l'appareil a dû être modifié de manière à maintenir le spot sur l'échelle, qui ne porte que 500 divisions.

Cette valeur minima qui reste parfois constante entre 56° et

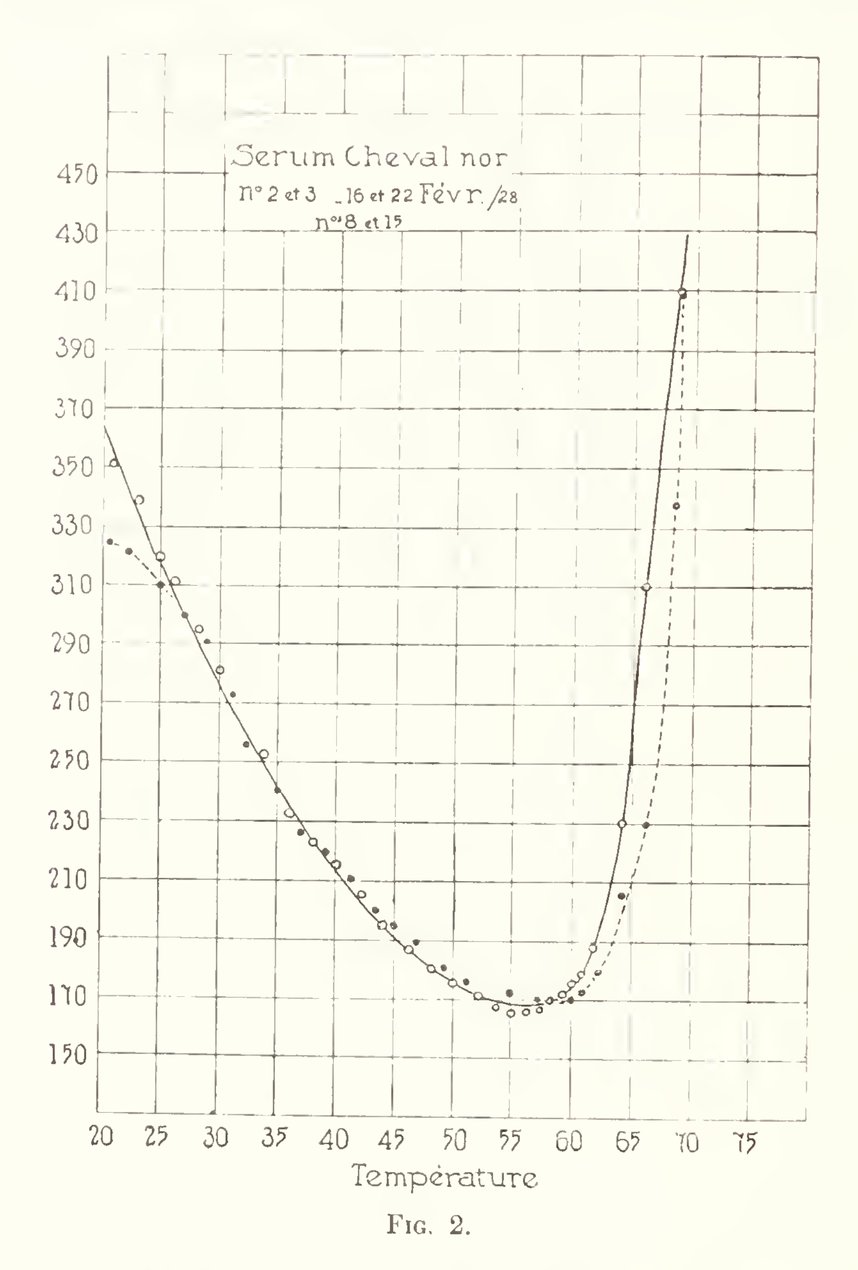


Fig. 2.

58° est suivie à partir de 58° ou 59°, d'une augmentation de la viscosité, qui croît alors rapidement.

A partir de 62°, l'accroissement devient extrêmement rapide et en général, avant que 70° soient atteints, le spot quitte l'échelle. Cependant, dans certains cas (fig. 3) ce n'est qu'au bout de deux minutes à 70° que le spot disparaît.

Ce phénomène est intéressant parce qu'il montre clairement l'existence de deux phases distinctes dans l'attitude du sérum

vis-à-vis de la température. La première, pour ainsi dire préparatoire, s'arrête vers 54° (pour des chauffages courts ne dépassant pas 30 minutes) et le parallélisme entre la courbe qui la repré-

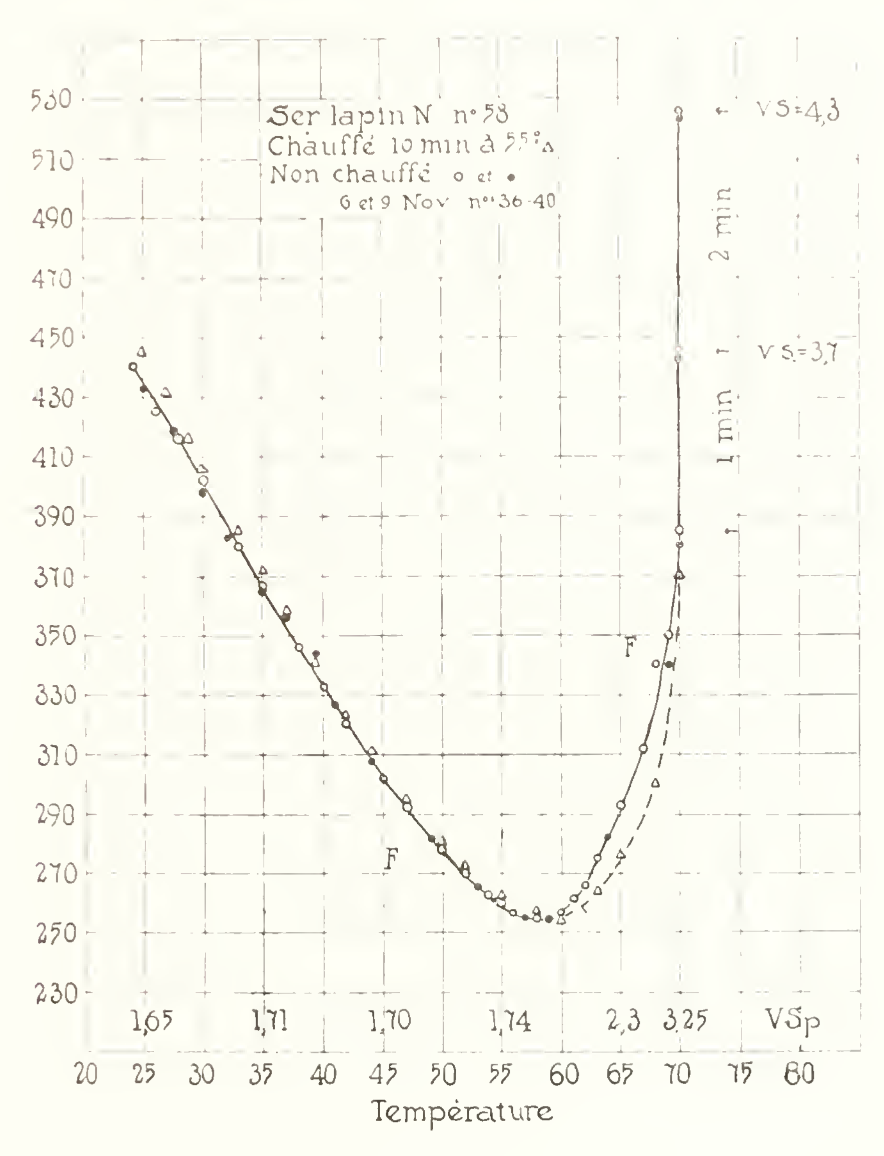


FIG. 3.

sente et celle exprimant la diminution de la viscosité de l'eau indique clairement que la diminution de viscosité n'est due qu'au solvant seul, (eau).

La seconde commence à la même température et aboutit à la coagulation : à partir de 54°, les protéines du sérum entrent en jeu et modifient l'allure de la courbe. Il y a donc un seuil aux environs de 54°.

Il nous a paru intéressant d'étudier ces phénomènes de plus près, afin de déterminer le rôle respectif du temps et de la tem-

pérature aux environs du point critique. On peut se demander en effet si une température de 55° prolongée suffisamment ne déterminerait pas dans le sérum une viscosité semblable à celle que détermine une température de 58° à 60° par exemple en quelques minutes. En d'autres termes, si la valeur absolue de la température joue un rôle spécifique dans les phénomènes de la coagulation, ou si ces phénomènes commencent à se produire d'une façon presque insensible aussitôt que la température s'élève — vers 40° ou 45° par exemple — de telle sorte qu'un chauffage prolongé à basse température aurait le même effet qu'un chauffage court à haute température. Nous avons déjà dit que le complément commence à se détruire vers 45°. Il y a donc intérêt à chercher s'il existe une corrélation entre les phénomènes physico-chimiques que nous mesurons et l'altération des propriétés biologiques du sérum.

La première expérience qui s'imposait était évidemment de répéter les expériences précitées avec du sérum chauffé en tube scellé, afin de constater les différences. La figure 3 exprime le résultat de trois séries de mesures avec le même sérum : deux séries (cercles blancs et noirs avec le sérum non chauffé) et une série avec le sérum *préalablement* chauffé à 55° pendant dix minutes (triangles). Il est bien évident que les trois courbes coïncident à peu près, sauf cependant à partir de 60° où un léger décalage se produit, la viscosité du sérum chauffé apparaissant légèrement moins forte.

Étant donné que la partie la plus intéressante de la courbe est celle comprise entre 20° et 55° ou 60°, les expériences suivantes furent effectuées de façon à introduire un contrôle supplémentaire : la température était progressivement amenée au point choisi, puis, le courant de chauffage étant coupé, le refroidissement était réglé de façon à se produire à peu près dans le même temps (quarante minutes de 60° à 20°). Les lectures n'étaient pas interrompues, et l'on pouvait maintenir le sérum pendant un temps quelconque à la température choisie avant de commencer à refroidir. De cette façon on obtient deux courbes qui coïncident à peu près et montrent que le phénomène est réversible. Le chauffage n'a pas altéré sensiblement les propriétés physiques étudiées. Il faut évidemment tenir compte de l'évaporation qui se produit pendant le chauffage et qui, bien que faible, n'est pas

négligeable et tend à augmenter légèrement la concentration. La figure 4 exprime le résultat d'une telle expérience, avec courbe

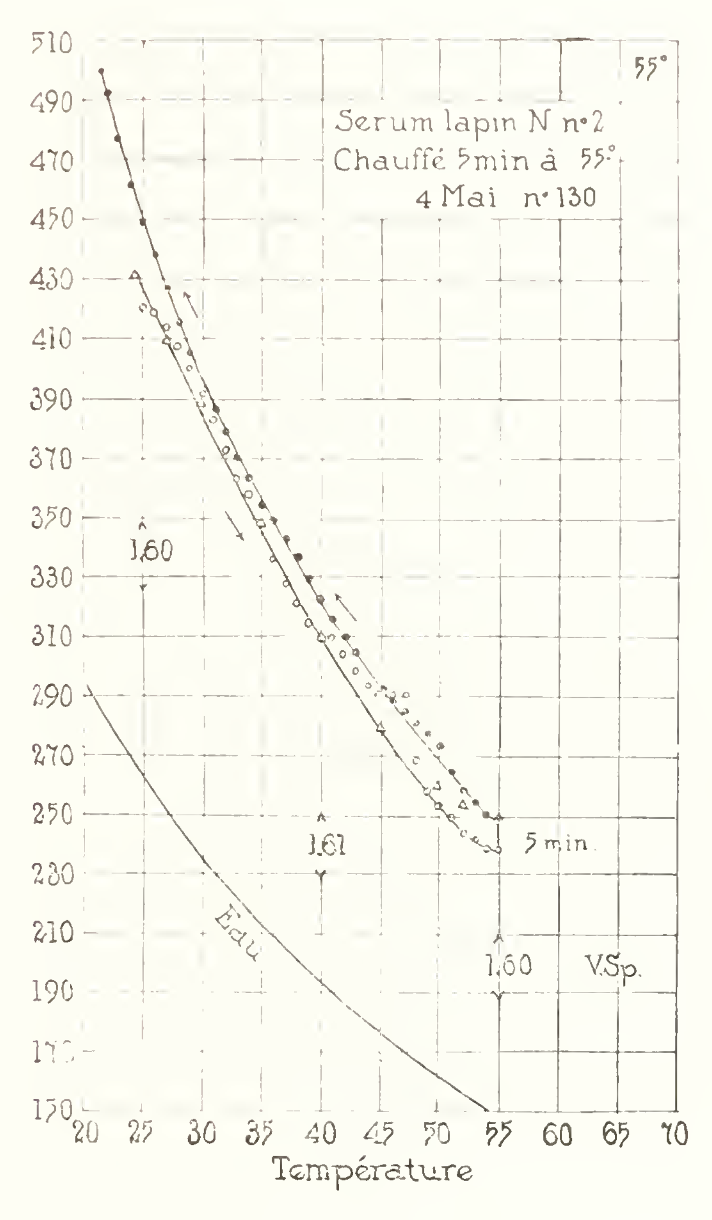


Fig. 4.

témoin. Les valeurs du sérum témoin non chauffé sont indiquées par des triangles, celles du sérum chauffé préalablement pendant cinq minutes en ampoule scellée, à 55° par des cercles blancs. Les cercles noirs représentent les valeurs prises par ce sérum *au retour* (refroidissement) après avoir été maintenu une seconde fois pendant cinq minutes à 55°. On constate de nouveau que le chauffage n'a guère modifié la viscosité du sérum à toutes les températures jusqu'à 50°, et que seul un très faible écart, de l'ordre des erreurs

expérimentales, s'est produit vers 53°-55°. La viscosité relative à toutes les températures est égale à 1,60 ± 0,01. Il est à remarquer que la viscosité spécifique du sérum ne varie pas ou très peu,

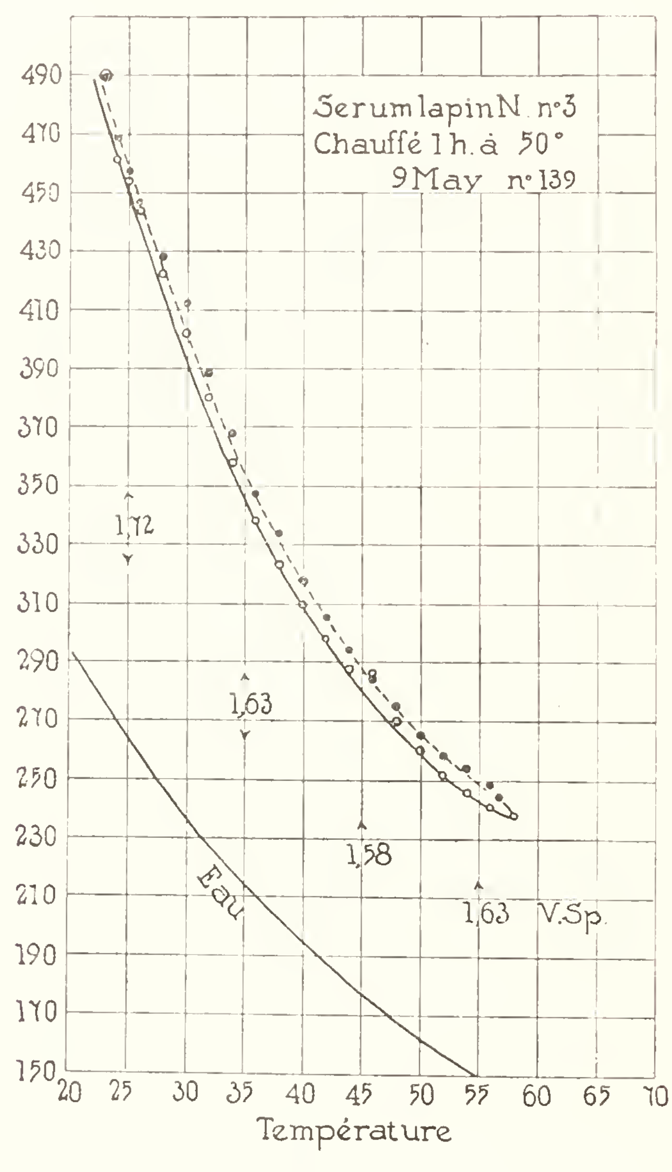


Fig. 5.

c'est-à-dire que tout se passe comme si les substances protéiques et autres constituant le sérum ne jouaient aucun rôle dans le phénomène de décroissance de la viscosité en fonction de la température, jusque vers 50°. Elles se comportent comme des molécules inertes et déterminent seulement un décalage qui reste constant sur une grande étendue de la courbe. Ce fait se retrouve toujours.

Un chauffage prolongé à 50° (une heure) ne détermine encore

aucun phénomène irréversible dans le sérum. La figure 5 le montre clairement. La viscosité moyenne est égale à 1,63 c'est-à-dire normale. Nous devons cependant signaler le fait suivant :

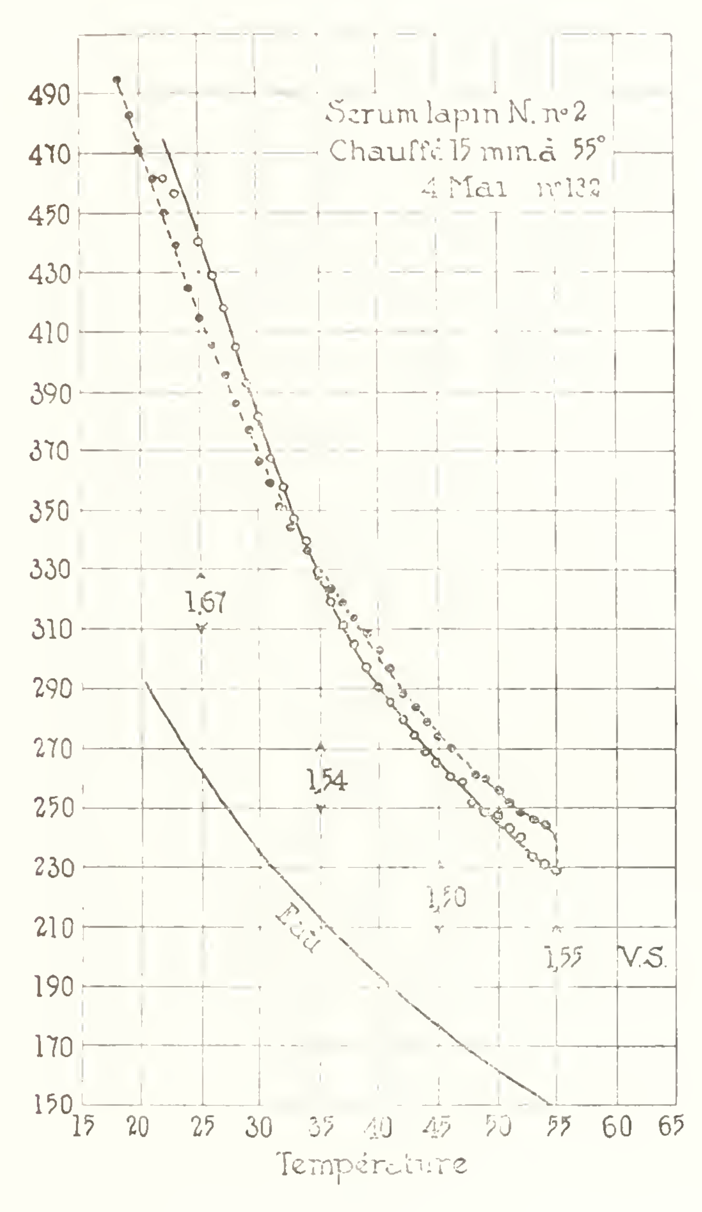


Fig. 6.

dans le cas d'un sérum frais non chauffé au préalable, il arrive fréquemment que d'importantes fluctuations se produisent entre 40° et 55° ; ces fluctuations sont parfois de grande amplitude, et toujours très brusques. Il semble que le plongeur se trouve brusquement attaché au cylindre rotatif par un fil dénué d'élasticité, et que ce fil casse soudain après avoir fait franchir au spot 20 et 30 et même 50 divisions.

Ce phénomène ne s'est *jamais* produit dans nos expériences, lorsque le sérum avait été chauffé à 55° et au-dessus.

Quinze minutes à 55° n'ont pas plus d'effet que dix (fig. 6). Le phénomène est parfaitement réversible. Dans une nou-

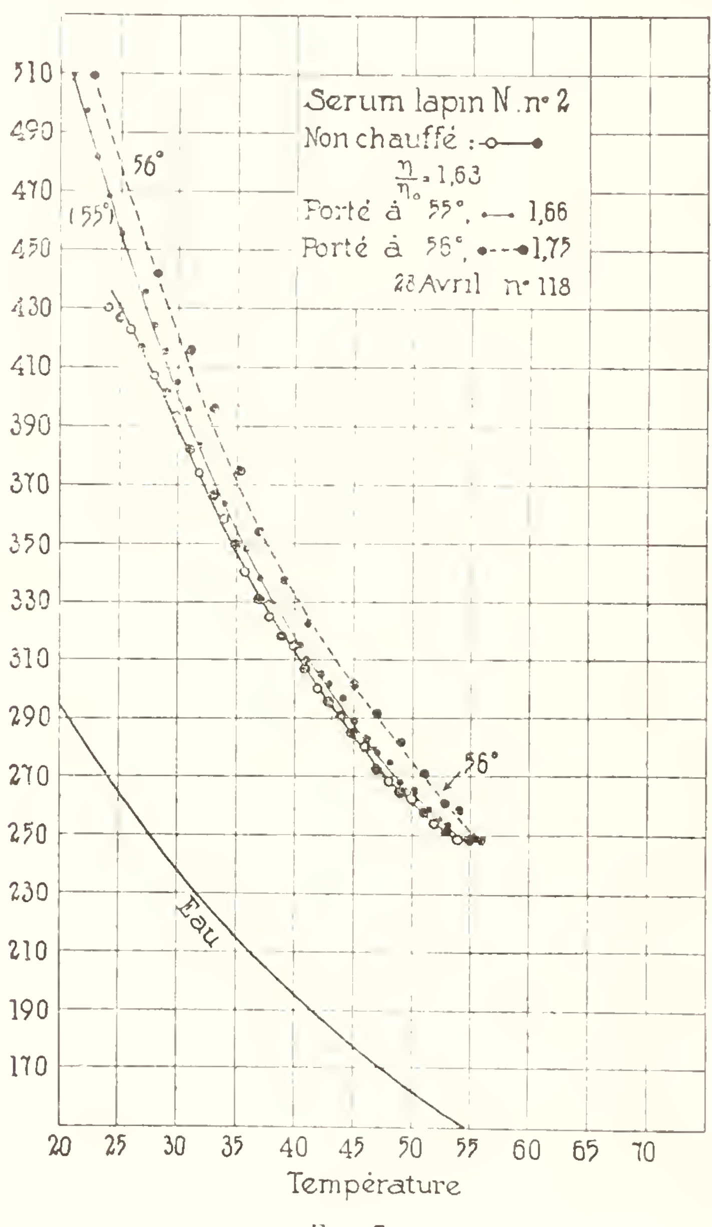


Fig. 7.

velle expérience, le sérum frais fut porté dans le viscosimètre jusqu'à 56° et maintenu à cette température pendant cinq minutes. La figure 7 montre le résultat de deux séries de mesures : l'une où le chauffage fut arrêté à 55°, l'autre à 56°, la première servant de contrôle. Ici nous voyons apparaître un décalage faible, mais très net, entre la courbe de retour (températures décroissantes) à

55° et à 56°. La légère augmentation finale de viscosité du sérum chauffé à 55° peut être imputée à l'évaporation, mais celle du sérum chauffé à 56°, qui se manifeste tout le long de la courbe, ne peut être attribuée à la même cause : le phénomène n'est plus

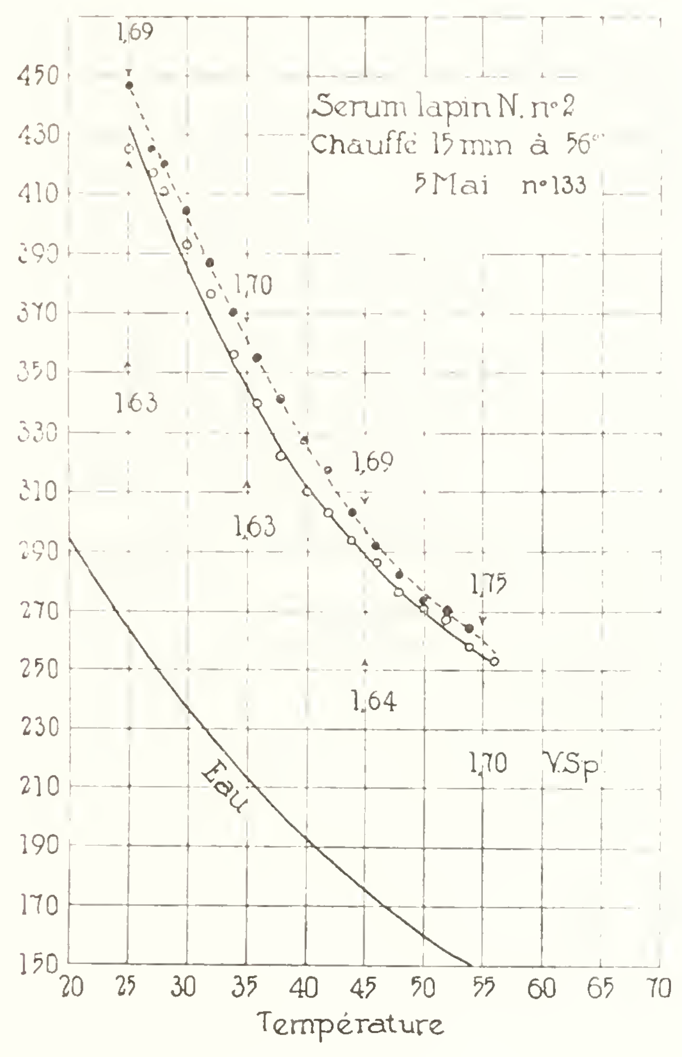


Fig. 8.

réversible, 56° est bien, pour ce sérum, une température critique. La viscosité spécifique atteint 1,70. Mais comme il fallait tout de même tenir compte de l'évaporation, l'expérience fut répétée en chauffant le même sérum pendant quinze minutes à 56° en tube scellé et l'on obtint la courbe de la figure 8. La viscosité moyenne est de 1,60. C'est donc une très faible augmentation ; elle ne se produit d'ailleurs pas toujours, et l'on peut admettre que 56° est la température minima à laquelle un changement irréversible peut se produire *en quinze minutes*, sauf exceptions comme par

exemple celle de la figure 9. Mais si le chauffage à 56° dure trente minutes l'altération devient plus frappante (fig. 10) nous voyons la viscosité moyenne monter à 1,77 pour les températures croissantes, et bien plus haut pour le retour.

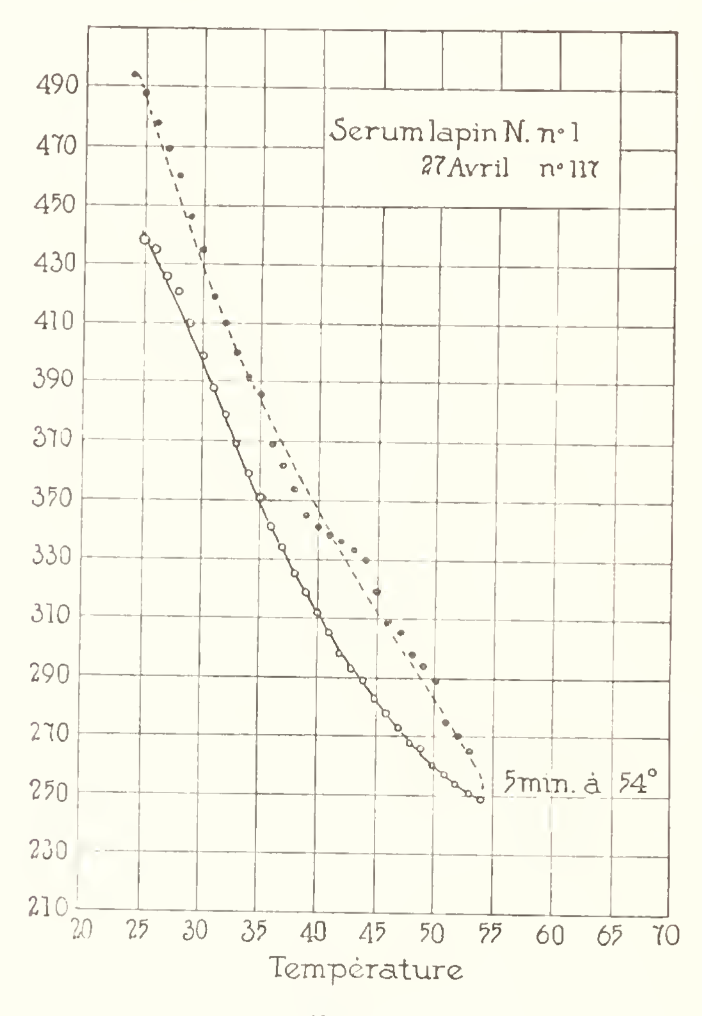


Fig. 9.

La figure 11 montre que dans certains cas, cinq minutes de chauffage à 56° (sérum de chien) ne produisent pour ainsi dire aucune modification.

Un autre sérum, dont la viscosité normale était d'ailleurs haute (fig. 12), chauffé jusqu'à 58° et refroidi aussitôt, ne montre aucun changement, mais le sérum de lapin n° 2 ($\eta = 1,63$), chauffé à 58° pendant quinze minutes, donna les courbes de la figure 13 et atteignit la valeur de $\eta = 1,80$. Une demi-heure à 58° amène la viscosité à une valeur moyenne de 1,95 (fig. 14).

Un autre sérum chauffé pendant une heure, puis pendant

deux heures, à 58° voit sa viscosité atteindre la valeur de 1,85 en moyenne et 1,90 maximum (fig. 15).

Enfin, la figure 16 exprime, pour un seul sérum, les résultats du chauffage pendant cinq minutes, à 57°, 59°, 60° et 62°. On

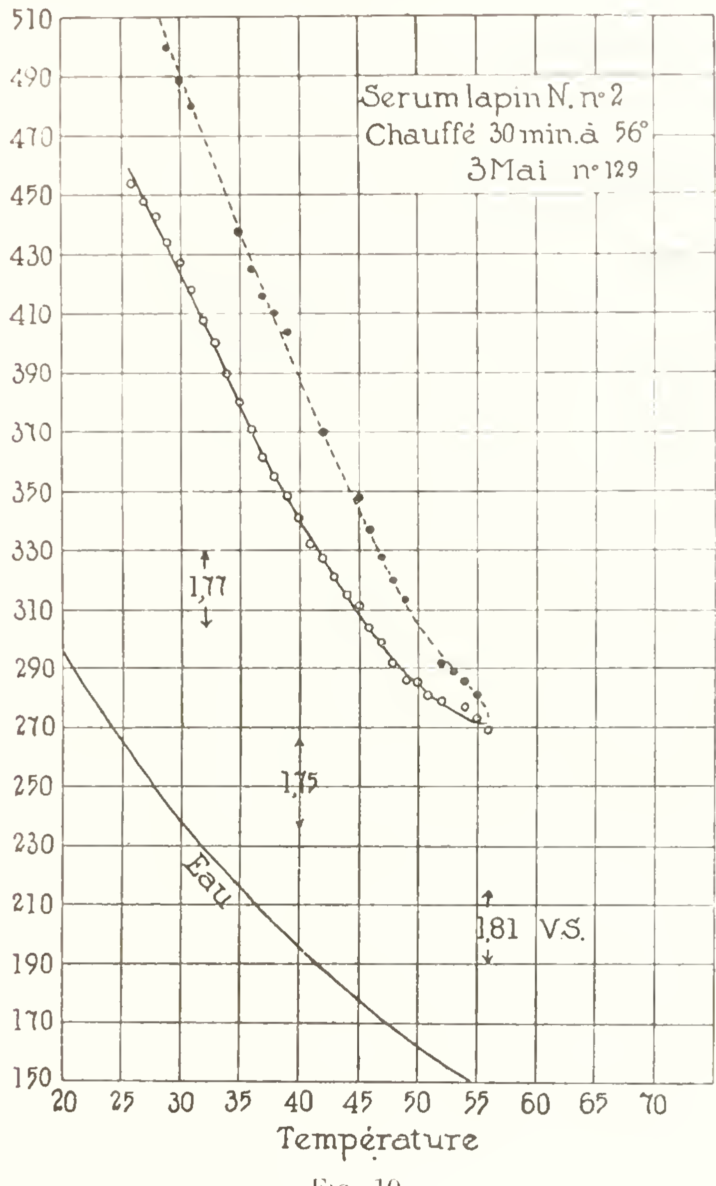


FIG. 10.

voit que si les courbes de descente (températures croissantes) coïncident à peu près tant que le sérum est frais, elles s'écartent progressivement, tout en restant sensiblement parallèles, au fur et à mesure que la température augmente. Mais il est clair que jusqu'à 62° au moins, il n'y a qu'une augmentation permanente de viscosité, sans apparition de structure dans le liquide.

La figure 17 résume pour le sérum d'un animal, toute une

série d'observations, montrant quelles combinaisons de température et de temps déterminent une même élévation de viscosité.

La question se pose maintenant de savoir à quoi est dû cet accroissement de viscosité, et de quelle façon on peut l'interpréter.

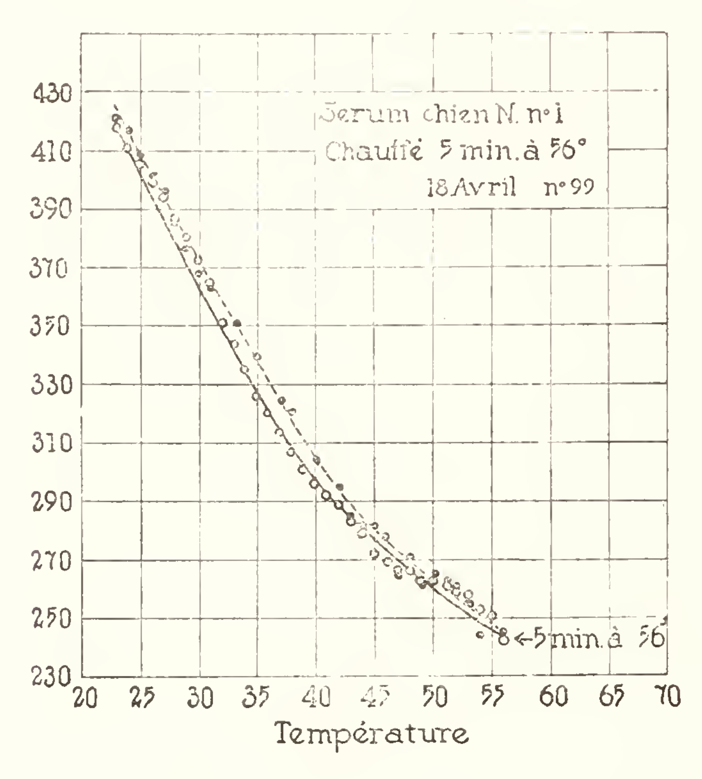


Fig. 11.

Discussion et interprétation. — On sait qu'Einstein a donné une équation [1] exprimant la viscosité en fonction linéaire du volume de la substance dispersée par unité de volume du solvant. Elle s'écrit :

$$\eta = 1 + 2,5\,\varphi$$

en appelant η la viscosité spécifique de la suspension et φ le volume occupé par la substance dispersée, exprimé en fraction du volume total de la solution. Cette formule simplifiée est une approximation de l'expression :

$$\eta = \frac{1 + 0,5\,\varphi}{(1 + \varphi)^2}\,.$$

Or, telle qu'elle est, cette équation ne s'applique qu'à des solutions très diluées, et exige que les particules soient rigides et

[1] Einstein (A.), *Ann. Physik*, **19**, 1906, p. 289 et **34**, 1911, p. 591.

exactement sphériques. Elle n'est pas conforme aux faits quand il s'agit de solutions lyophiles, ou lyophobes plus concentrées (voir Freundlich, Kapillarchemie).

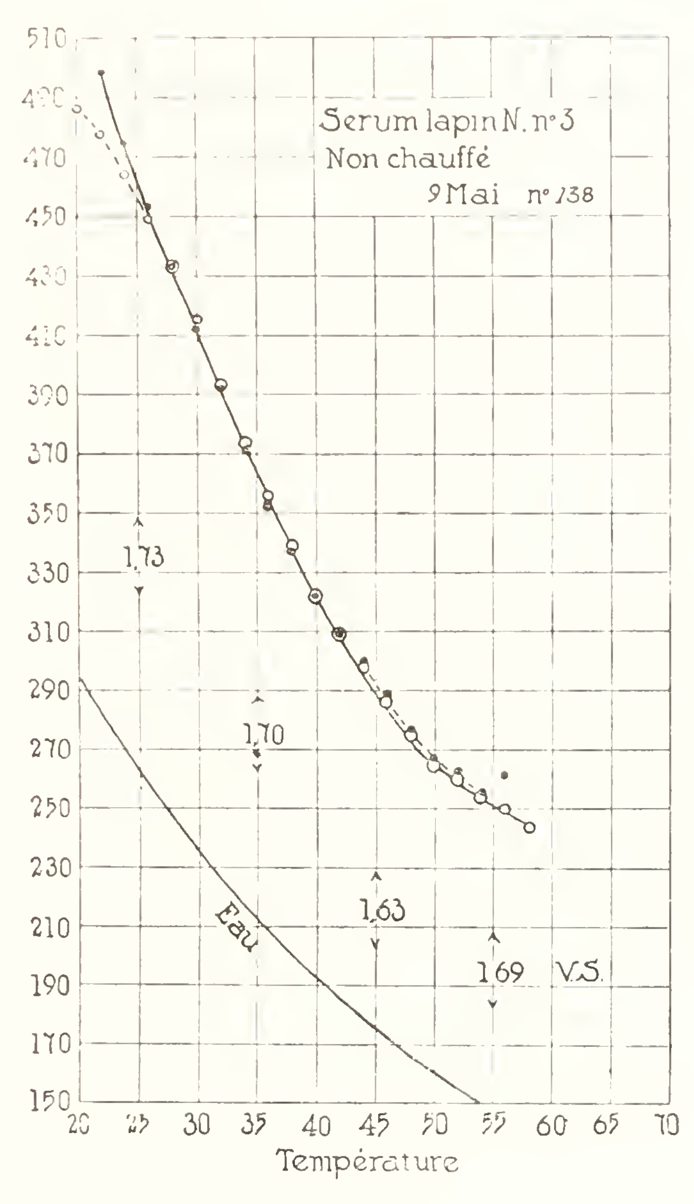


Fig. 12.

Mais Kunitz a proposé une autre formule, empirique [1] :

$$\eta = \frac{1 + 0,5\,\varphi}{(1 - \varphi)^4}$$

qui rend compte des faits expérimentaux avec une grande exactitude, pour des concentrations quelconques. Cette formule pré-

[1] Kunitz (M.), *Journ. Gen. Phys.*, **9**, 1926, p. 715.

sente un grand intérêt pour nous, pour la raison suivante : nous avons mis en évidence l'augmentation progressive de la viscosité d'un sérum soumis à des températures croissantes pendant un temps constant. Or, si nous admettons avec Einstein et Kunitz

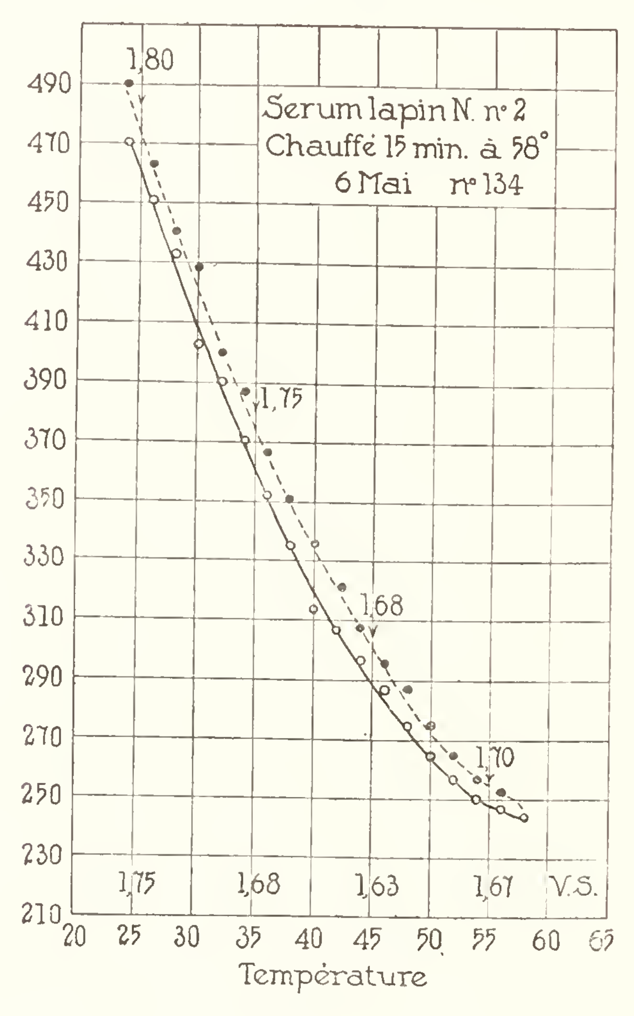


Fig. 13.

que la viscosité d'un sol ne dépend pas de la dimension des particules en solution, mais du rapport des volumes de la phase dispersée et de la phase liquide, et s'il est prouvé que l'équation de Kunitz s'applique à toutes les concentrations, même dans le cas de colloïdes hydrophiles (gélatine, caséine, etc.), nous possédons un moyen de calculer ce rapport dans le cas du sérum, c'est-à-dire de déterminer le degré d'hydratation des protéines de ce sérum.

En effet, la viscosité, d'après ces auteurs, ne peut augmenter que si les particules en solution fixent une certaine quantité du solvant : leur volume augmente donc (ce qui ne déterminerait

pas d'accroissement de viscosité en soi), mais de plus, le volume du liquide dans lequel ils se trouvent diminue de la même quantité, et c'est la variation du rapport de ces deux quantités qui se manifeste par une augmentation de viscosité. Or, les calculs de

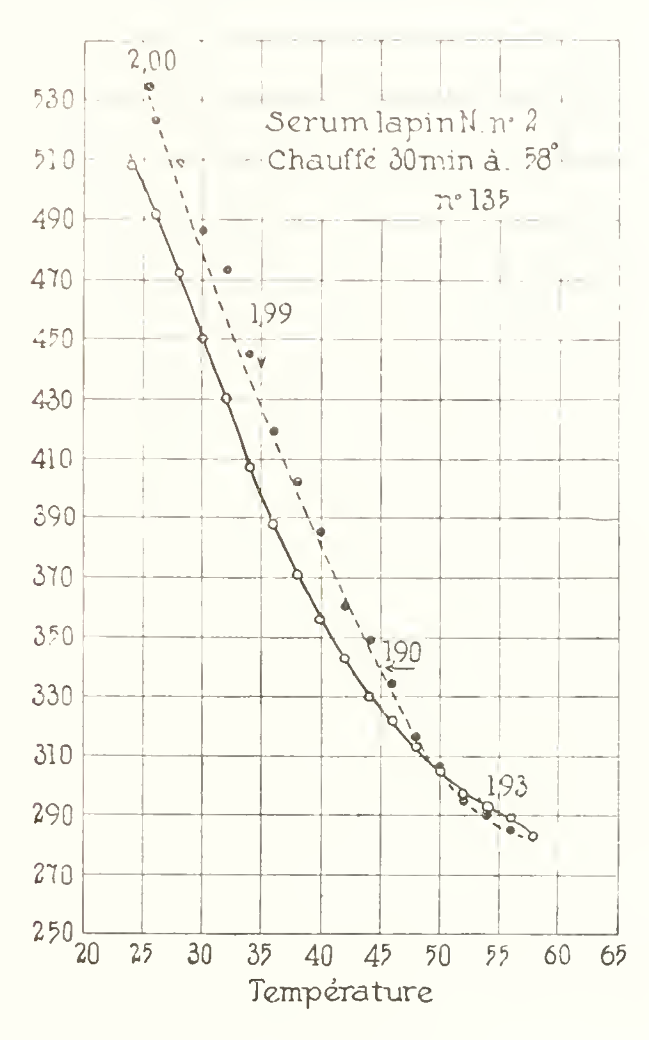


FIG. 14.

Kunitz montrent que sa formule rend compte de façon très satisfaisante de l'accroissement de la viscosité en fonction du volume de la phase dissoute ou en suspension, dans des cas très variés : sucres (concentrations de 1 à 25 %), granules de soufre de différentes dimensions (de 10 $m\mu$ à 100 $m\mu$ et à des concentrations de 1 à 48 %; solutions de caoutchouc dans différents solvants, etc. Nous sommes donc autorisés à l'appliquer au cas du sérum, dont la concentration en protéines varie de 6 à 8 %. Nous insistons encore une fois sur le fait que la formule d'Einstein sous la forme simplifiée qu'il lui a donnée : $\eta = 1 + 2,5\ \varphi$ ne s'accorde pas

avec les valeurs trouvées expérimentalement, mais donnent pour $\frac{\varphi}{C}$ (rapport du volume de la phase dispersée pour cent du volume total, à la concentration en grammes pour cent de la

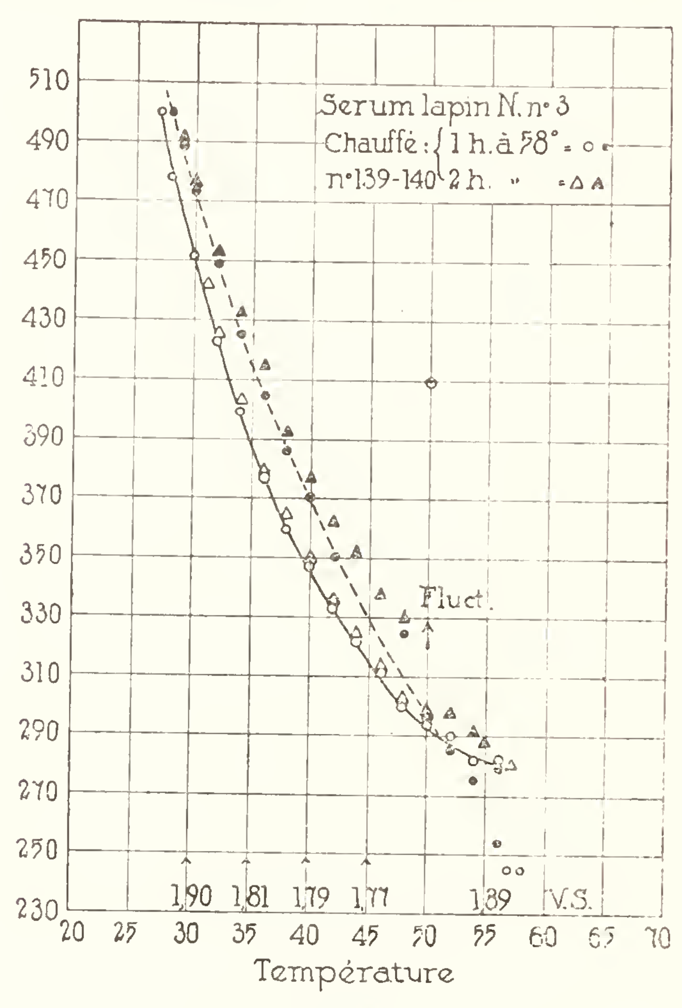


Fig. 15.

solution) dans le cas du saccharose par exemple, des valeurs qui croissent en fonction de la concentration de 1,04 à 1,69, au lieu de la valeur observée, sensiblement constante, de 0,64. Il est clair que ce rapport $\frac{\varphi}{C}$ exprime le volume spécifique de la substance dissoute ; la formule de Kunitz donne pour le cas précité des valeurs variant entre 0,60 et 0,63 pour des concentrations variant entre 1 et 21,7 % ; le volume spécifique de ce sucre est donné par les tables comme égal à 0,63 et par Einstein comme égal à 0,61.

Le tableau ci-après donne le résultat des calculs effectués.

TABLEAU IV

Viscosité du sérum de lapin n° 3 chauffé à différentes températures et résultats numériques des calculs effectués au moyen de l'équation de Kunitz (voir fig. 17). Concentration moyenne du sérum en protéines = C 6.5 % [1].

1	2	3	4	5	6	7
Viscosité spécifique	φ p. 100	Volume spécifique $\frac{\varphi}{C}$	Volume spécifique des protéines sèches	Rapport des colonnes 3 et 4	Hydratation p. 100 (2) (accroissement du volume spécifique)	Accroissement de l'hydratation dû au chauffage p. 100
1,65	10,7	1,615	0,785	2,09	109	Sérum non chauffé
1,69	11,2	1,720	0,785	2,19	119	
1,88	13,3	2,030	»	2,58	158	39
2,03	14,8	2,275	»	2,90	190	71
2,30	17,2	2,650	»	3,37	237	118
2,62	19,8	3,050	»	3,88	288	169
2,95	21,8	3,350	»	4,27	327	208

Dans la première colonne, se trouvent les viscosités relatives du sérum (se reporter à la figure). Dans la seconde se trouvent les valeurs de φ c'est-à-dire du volume occupé par les protéines exprimé en pour cent du volume total de la solution. Ces valeurs sont calculées au moyen de la formule de Kunitz. Le volume spécifique dans la troisième colonne est évidemment égal à φ divisé par la concentration. Le volume spécifique des protéines sèches est égal (4e colonne) à l'inverse de la densité, qui fut déterminée pour ce sérum par la méthode des solutions étalons de benzine et de chloroforme, et contrôlée par la méthode décrite précédem-

[1] Il est bien évident que les chiffres de ce tableau ne sont donnés qu'à titre d'exemple, et ne correspondent qu'à un sérum particulier, âgé de dix-huit heures, et provenant d'un animal donné. Ils ne sauraient en aucune façon être considérés comme ayant un caractère de généralité absolue, car il est probable que certains facteurs dont on n'a pas tenu compte ici, entrent en jeu pour déterminer le pouvoir d'hydratation des protéines du sérum. Néanmoins, le lecteur a pu se rendre compte par les exemples précédents que les chiffres varient relativement peu d'un échantillon à l'autre, pris dans les mêmes conditions, et que par conséquent, ceux de ce tableau sont représentatifs d'un ordre de grandeur.

ment (¹). La 5ᵉ colonne exprime l'accroissement du volume spécifique dû au fait que les protéines sont en solution (chiffre de la première ligne), puis l'accroissement de ce volume dû au chauffage.

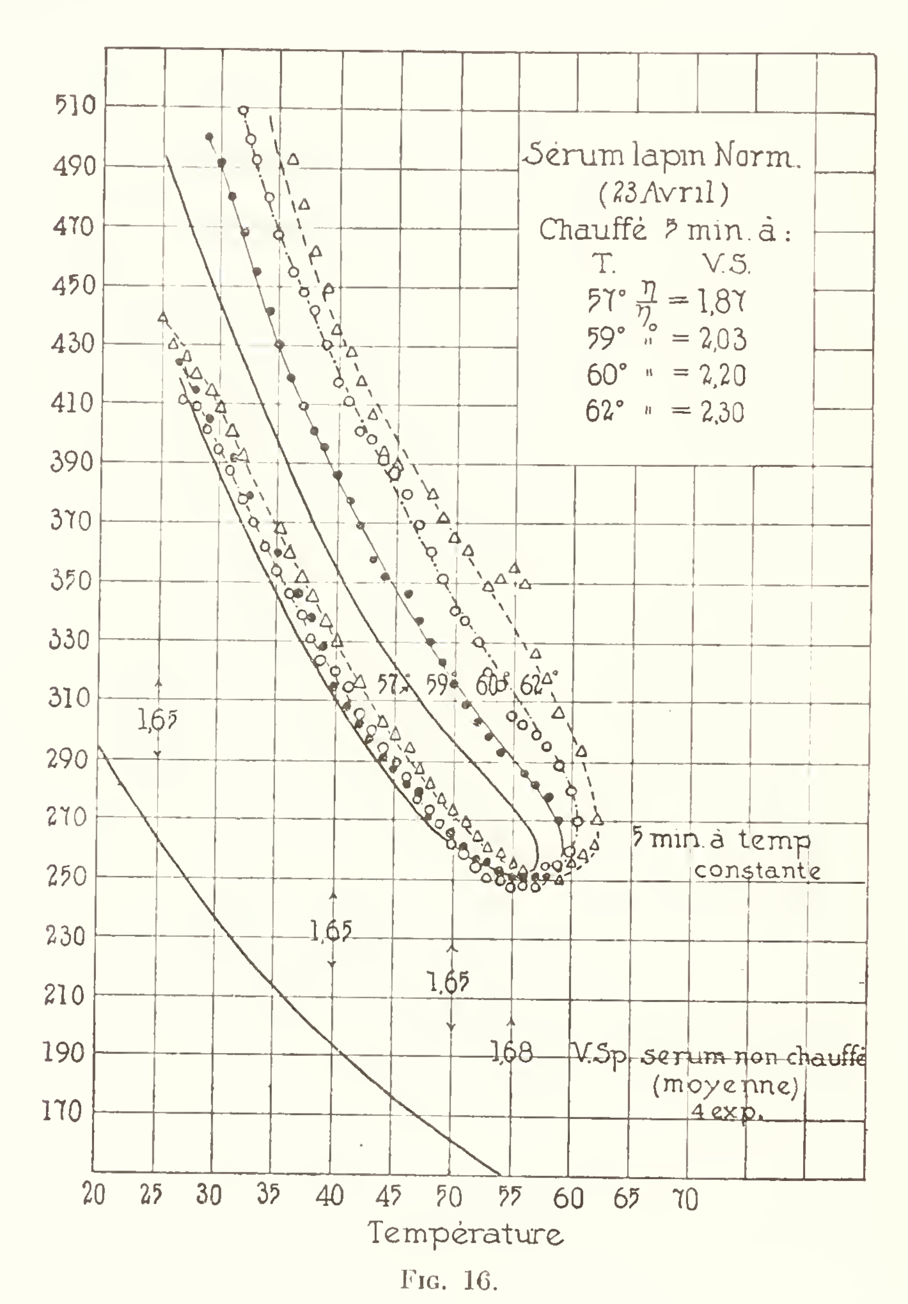


Fig. 16.

La colonne 6 exprime cet accroissement en pourcentage, et la colonne 7 l'accroissement de ce pourcentage dû au chauffage, d'une expérience à l'autre.

(¹) Lecomte du Noüy, *A densimeter for the rapid determination of the specific gravity of small quantities of liquids and solids* (*Journ. Biol. Chem.*, **74**, 1927, p. 443).

Dans toutes les mesures faites à concentration variable, avec différentes substances, publiées par Kunitz, le volume spécifique (colonne 3) reste constant, dans de larges limites. Ici, nous voyons qu'au contraire, il n'en est rien. Les mesures sont faites à

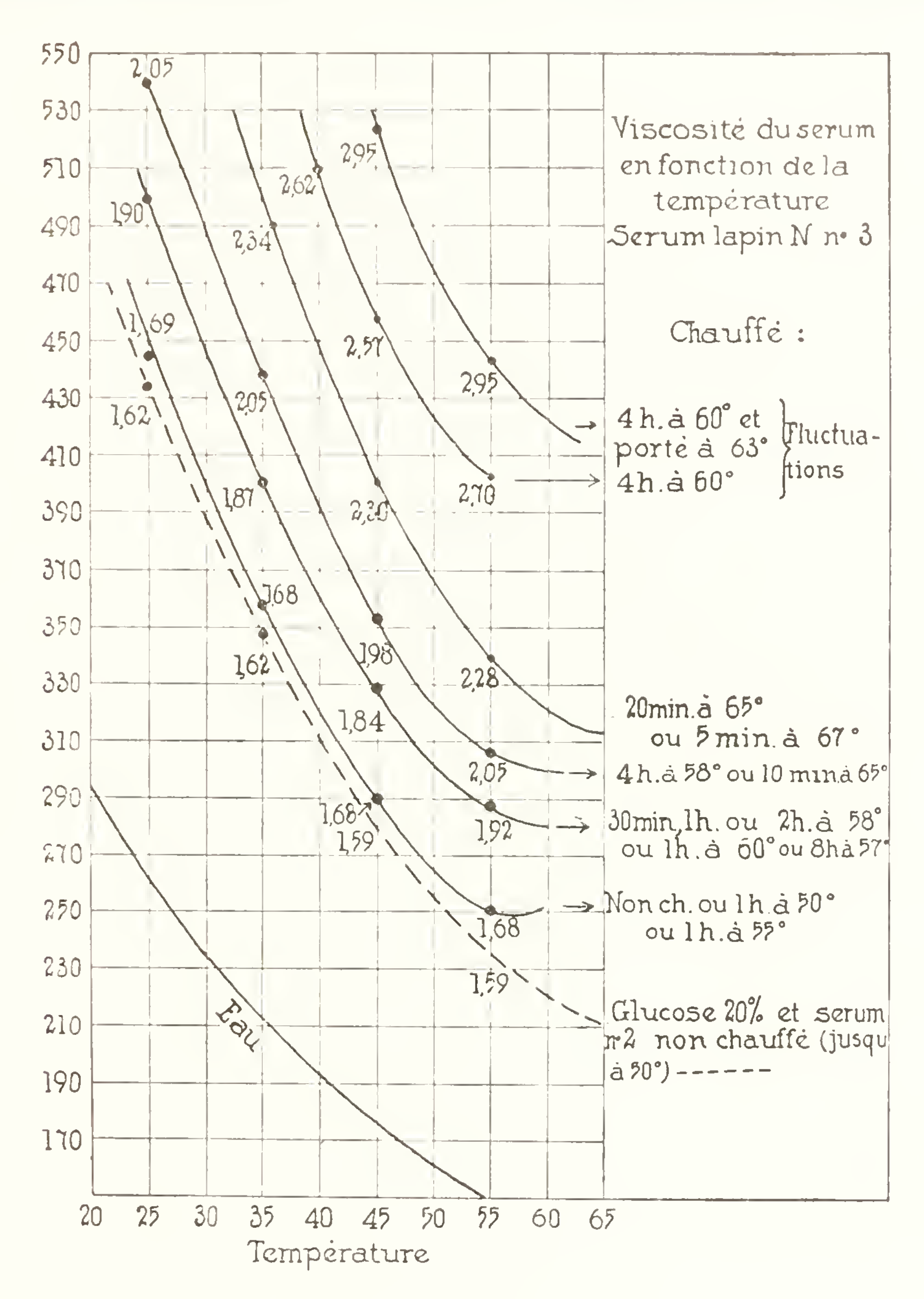


Fig. 17.

concentration constante, mais le volume spécifique augmente de façon presque linéaire avec la température. C'est ce phénomène qui détermine l'augmentation parallèle de la viscosité. Or, l'accroissement du volume spécifique des protéines en solution ne

peut signifier, en admettant les conclusions d'Einstein, que l'augmentation du volume de la substance dissoute, au détriment du volume du solvant (puisque la concentration C est constante) c'est-à-dire une fixation d'eau sur les molécules, ou dans les micelles, une hydratation.

Mais d'autre part, l'équation d'Einstein ne permet pas de calculer les valeurs du volume spécifique des substances dissoutes ou en suspension et nous avons eu recours à une autre équation, celle de Kunitz, qui, étant empirique, n'entraîne peut-être pas les mêmes nécessités. En d'autres termes, l'accroissement du volume spécifique que nous pouvons ainsi calculer, est peut-être dû, pour une certaine part, à d'autres phénomènes que l'hydratation simple.

On peut donc admettre que les protéines du sérum chauffé jusqu'à 55°, même pendant une heure, ne s'hydratent pas plus qu'elles ne le sont normalement. (Mais on ne peut encore affirmer de façon formelle que les chiffres portés dans la colonne 6 représentent quantitativement une augmentation due à l'hydratation seule.) Par rapport aux protéines anhydres, les protéines, dans ce sérum, auraient une hydratation d'environ 120 % (en volume) (colonne 6, première ligne). Le chauffage à 57° augmenterait, d'après ces calculs, cette hydratation de 39 % (dans les conditions de l'expérience en question).

Il semble qu'on devrait tenir compte dans l'étude de la viscosité des colloïdes de la charge électrique des particules. Von Smoluchowski [1] en particulier, a étudié la question et a généralisé la formule d'Einstein en tenant compte de la conductivité spécifique λ, du rayon des particules r, de la constante diélectrique D et de la différence de potentiel électrocinétique ζ. La formule d'Einstein, écrite de la façon suivante

$$\eta_s = \eta_m (1 + 2{,}5\,\varphi)$$

devient alors :

$$\eta_s = \eta_m \left\{1 + 2{,}5\,\varphi \left[\frac{1}{\lambda \eta_m r^2}\left(\frac{D\zeta}{2\pi}\right)^2\right]\right\}.$$

Nous n'en avons pas tenu compte parce que nos résultats expérimentaux sont en désaccord avec ce qu'on devrait attendre

[1] SMOLUCHOWSKI, V., *Kolloidzeitschr.*, **18**, 1916, p. 194.

de cette formule. En effet, elle fait prévoir une diminution de la viscosité quand la dimension des particules augmente. Or, il n'y a guère de doute que le chauffage du sérum, qui aboutit à la coagulation, ne détermine un accroissement de la dimension des micelles, et nous constatons toujours une augmentation de viscosité. Ces questions sont excellemment discutées dans l'ouvrage de Freundlich : *Kapillarchemie*. Nous signalons en outre une intéressante thèse (de Paris 1927) de M. Marinesco.

La figure 17 suggère encore une remarque : la courbe pointillée (viscosité 1,62 à 1,70) est celle obtenue avec une solution de sucre, dont la concentration est environ triple de celle du sérum (20 %), mais dont le volume spécifique est trois fois moins grand, et elle se confond presque sur toute sa longueur jusqu'à 55° avec celle du sérum. Le sérum se comporte donc exactement comme une solution vraie jusqu'au point critique de 55°, et il est surprenant de constater qu'une solution si concentrée de protéines puisse posséder une viscosité aussi basse. A volume spécifique égal, la viscosité du sérum dilué est bien inférieure à celle d'une solution de sucre.

Il n'est peut-être pas inutile d'ajouter que le plasma de lapin additionné d'héparine pour empêcher la coagulation, se comporte comme le sérum ; sensiblement plus visqueux que celui-ci à 20° (environ 1,5 fois plus) l'écart diminue avec l'élévation de la température et à 58°, les viscosités sont presque égales.

L'indice de réfraction du sérum chauffé en tube clos ne varie pas en général, comme l'indique le tableau ci-dessous.

Tableau V. — *Sérum normal de lapin n° 57 chauffé en vase clos (bouché à l'émeri)*

	*n*D	*p*H
Echantillon n° 1 chauffé à 55° pendant dix minutes . . .	1.3472	7,4
Echantillon n° 2 chauffé à 60° pendant dix minutes . . .	1.3472	7,4
Echantillon n° 3 chauffé à 65° pendant dix minutes . . .	1.3472	7,4
Echantillon n° 4 chauffé à 70° pendant dix minutes . . .	1.3472	7,4
Echantillon n° 5 non chauffé, témoin	1.3472	7,6

On voit par l'examen de la seconde colonne que la légère modification du *p*H ne semble pas être fonction de la température. Nous verrons plus loin que l'emploi d'une méthode plus précise a révélé que le *p*H, constant en effet jusqu'aux environs de 58°, diminuait ensuite légèrement.

*
* *

L'étude de la viscosité du sérum sanguin en fonction de la température, effectuée au moyen d'un appareil nouveau, nous a permis de mettre en évidence les faits suivants :

1° La courbe représentant les variations de la viscosité présente un minimum absolu, situé vers 56° ;

2° De part et d'autre de ce minimum, la viscosité augmente, mais bien plus rapidement du côté des températures croissantes ;

3° Quand un sérum est chauffé jusqu'à 55° en vase clos, sa viscosité n'est pas augmentée sensiblement, même si le chauffage dure une heure ;

4° En général, à partir de 56°, une augmentation de viscosité irréversible se produit, même si le chauffage à cette température ne dure que cinq minutes. Cependant nous avons observé des exceptions ;

5° Chaque degré d'élévation de température au-dessus de 56° correspond à une augmentaion irréversible de la viscosité du sérum ; la viscosité du sérum peut être ainsi presque triplée sans trace de coagulation, et sans indication d'apparition de structures;

6° En appliquant à ce phénomène les vues d'Einstein et de Kunitz et en employant la formule de ce dernier, nous avons calculé l'augmentation du volume spécifique des protéines en solution dans un sérum donné. En admettant que cette augmentation soit due, comme il semble logique de le croire, à la fixation d'eau sur les molécules de sérum, ces chiffres représentent l'hydratation aux différentes températures. A la température normale, et jusqu'à 55°, l'hydratation serait de 120 % environ. Elle atteint plus de 300 % dans certaines conditions, et augmente probablement encore. Mais la méthode viscosimétrique que nous utilisions ne nous permettait pas de mesurer facilement de plus grandes viscosités. Le nouvel appareillage que nous possédons aujourd'hui rendrait ces mesures aisées.

Nous verrons par la suite que nous avons tourné la difficulté en employant une méthode optique.

CHAPITRE IV

Etudes sur le pouvoir rotatoire et la dispersion rotatoire du sérum en fonction du temps et de la température

Les faits précédents nous conduisirent à penser qu'il existait très probablement un autre phénomène plus fondamental qui, étant, lui, la conséquence *immédiate* du chauffage à une certaine température, serait la cause déterminante des changements dans les propriétés biologiques, d'une part, et, d'autre part, des modifications dans la nature des relations entre les molécules affectées et les molécules du solvant. Ces modifications devraient entraîner également une différence dans les relations des molécules protéiques entre elles. Il était logique d'admettre que ce phénomène fondamental, cause commune des altérations biologiques et physico-chimiques fût de nature chimique, c'est-à-dire qu'il affectait la structure même des molécules du sérum.

S'il existe véritablement, en plus du minimum de viscosité et de la destruction du complément, un troisième phénomène qui révèle une altération profonde de la structure moléculaire, et que nous puissions mettre en évidence aux environs de la température critique, nous pourrons en déduire que les deux premiers en sont des conséquences directes. C'est dans ce but que nous avons étudié le pouvoir rotatoire de différents sérums, à toutes les températures depuis 0° jusqu'à 70°.

Technique et expériences [1]

Les mesures furent effectuées au moyen d'un polarimètre à pénombre de Jobin et Yvon, permettant les lectures au 1/100e de degré. Les tubes employés étaient tous de 10 centimètres de longueur. La source lumineuse était fournie par une lampe à vapeur de mercure, dont les rayons passaient par un monochromateur à prisme. La commande du monochromateur, placée à portée de la main de l'observateur, permettait de changer rapidement la longueur d'onde de la lumière employée, afin d'étudier la *dispersion rotatoire*. La raie indigo ($\lambda = 4.358$ Ångströms), pourtant très intense, est entièrement absorbée. Nous fûmes donc réduits à employer la raie verte ($\lambda = 4.561$ Ångströms), les raies jaunes ($\lambda = 5.769$ et 5.790, ensemble), et parfois la raie rouge ($\lambda = 6.234$). Le sérum était contenu dans des tubes soigneusement bouchés, ou plus généralement dans des tubes scellés à la lampe, et maintenus à la température choisie dans des bouteilles « Thermos » munies d'un agitateur. La température, fréquemment contrôlée, ne subissait pas, durant des chauffages de l'ordre d'une heure, des écarts supérieurs à $\pm$ 0°,25.

Pour la deuxième série d'expériences (coefficient de température) mentionnée dans ce chapitre, il fut nécessaire de monter un appareil spécial de la façon suivante : on utilisa un tube de 10 centimètres à circulation d'eau, muni d'un thermomètre. L'eau de circulation passait dans un réchauffeur électrique, puis dans une pompe centrifuge et enfin dans le manchon du tube du polarimètre, en circuit fermé. La pompe maintenait le liquide en circulation rapide et la température était réglée au moyen d'un rhéostat approprié. Pour partir des basses températures, un serpentin métallique interposé sur le parcours de l'eau, était immergé dans de la glace fondante ou un mélange réfrigérant. Le passage de 0° à 55° se faisait d'une façon continue, aussi lentement qu'on le désirait. Quand la température de la pièce était atteinte (20° environ), et que le chauffage électrique entrait en jeu, il suffisait de couper le courant pour maintenir la température sensiblement constante pendant plusieurs minutes, en raison de

[1] Lecomte du Noüy, *Ann. Inst. Pasteur*, **43**, p. 749, 1929.

l'inertie calorifique de l'ensemble et des précautions d'isolement qui étaient prises.

Nous allons exposer les résultats expérimentaux dans l'ordre suivant : 1° influence du temps ; 2° influence de la température non prolongée, de 0° à 55° (coefficient de température) ; 3° influence de la température en fonction du temps ; 4° dispersion rotatoire.

1° *Influence du temps.* Il était nécessaire avant tout de connaître les variations spontanées qui pouvaient se produire en fonction du temps dans le pouvoir rotatoire du sérum, qui est toujours lévogyre.

Dans ce but, on mesura le pouvoir rotatoire à des intervalles de temps différents. Dans les tables et les figures, les chiffres indiquent la valeur de l'angle dont le plan de polarisation a tourné. Nous avons jugé inutile, tant que les variations seules nous intéressaient, de calculer pour chaque mesure le pouvoir rotatoire spécifique exprimé par

$$[\alpha]^t_\lambda = \frac{\alpha}{L\gamma}$$

où $\alpha =$ l'angle dont le plan de polarisation a tourné : $L =$ la longueur du tube *en décimètres*, et $\gamma =$ la concentration en grammes, par centimètre cube de solution.

Le pouvoir rotatoire spécifique varie suivant les sérums ; sa valeur moyenne est de $[\alpha]^{20} = 58$ pour la raie verte ($\lambda = 5461$), $[\alpha]^{20} = 49$ pour les raies jaunes (λ moyen $= 5780$) et $[\alpha]^{20} = 40$ pour la raie rouge ($\lambda = 6.234$). Les valeurs extrêmes observées pour la raie verte furent $\left[\alpha\right]^{20}_{5461} = 52$ et $\left[\alpha\right]^{20}_{5461} = 62$ (sérum de cheval normal).

Les tubes scellés à la lampe étaient généralement séparés en deux lots, dont l'un était conservé en glacière à $+2°$, et l'autre simplement dans un tiroir, à la température ordinaire.

Tableau VI

Sérum n° 889 : cheval, Exp. n° 40 λ = 5.780 (jaune)

Temps	0	1 h.	2 h. 30	3 h. 30	4 h. 30	5 h. 30	6 h. 30	7 h. 30
α. . . .	3°68	3°68	3°66	3°66	3°66	3°66	3°66	3°66

Cette expérience montre que, dans ces conditions normales, il ne se produit pas, en sept heures et demie, de changements supérieurs aux erreurs expérimentales. Ces modifications peuvent cependant exceptionnellement atteindre une valeur plus importante, comme le prouve le tableau VII qui ne porte que sur 35 minutes.

Tableau VII

Sérum cheval normal n° 2. Exp. n° 42

Valeurs de α lues successivement entre 3 h. 15 et 3 h. 50, λ = 5.780 Å

Echantillon conservé en glacière en degrés	Echantillon à la température ambiante en degrés
— 3,80	— 3,85
3,90	3,85
3,88	3,90
3,87	3,90
3,87	3,88

Ici les différences atteignent 0°08 pour l'échantillon en glacière.

Le tableau VIII donne les résultats d'une expérience ayant duré quinze jours.

Tableau VIII

Sérum de cheval normal n° 1. Exp. n° 42

Jours	1	3	6	9	13	15	Ecart max.
	degrés	degrés	degrés	degrés	degres	degres	degres
Température ambiante :							
λ = 5780 Å (jaune) . .	3,83	3,88	3,90	3,90	3,85	3,86	0,07
λ = 5561 Å (vert). . .	4,15	4,43	1,51	4,45	4,11	4,51	0,10
Glacière :							
λ = 5780 Å	3,86	3,85	3,88	3,79	3,89	3,86	0,10
λ = 5461 Å	4,51	1,10	4,16	4,40	4,43	4,42	0,11

On voit que les chiffres présentent des écarts atteignant au maximum 0°11. Ces écarts ne sont pas entièrement dus à des erreurs de lecture, car ces erreurs ne dépassent jamais ± 0°03. Ils sont donc déterminés par des changements spontanés dans le pouvoir rotatoire du sérum qui, dans certains cas seulement, oscille autour d'une valeur moyenne. Mais le temps ne semble pas généralement — jusqu'à quarante jours — modifier dans un sens constant le pouvoir rotatoire d'un sérum donné. Au bout d'un temps variable suivant les échantillons de sérum, on note un obscurcissement très net de la solution (à partir du seizième jour en général) en lumière polarisée. Parfois, on observe un faible accroissement, au bout de quinze à vingt jours, de la valeur de α.

Ce point étant établi, nous savons quel est l'ordre de grandeur des erreurs d'expériences échappant à notre contrôle et nous pouvons en toute sûreté aborder l'étude de l'action de la température.

2° *Coefficient de température.* Le tableau IX exprime les résultats d'une série de mesures effectuées sur du sérum normal. Les chiffres représentent les valeurs de α obtenues en soustrayant la lecture au cadran de 360°.

TABLEAU IX

Température	22°	25°	31°	35°	39°	45°	Observation
Raie verte . .	4,20	4,17	4,20	4,25	4,23	4,22	Lectures difficiles à partir de 35° à cause de l'assombrissement des plages.
Raie jaune. .	3,60	3,62	3,60	3,60	3,62	3,64	
Raie rouge .	2,93	illisible					

Le sérum fut laissé dans son tube, sur le polarimètre, et le lendemain (vingt-deux heures plus tard) l'expérience était répétée, le sérum s'étant éclairci spontanément (tableau X).

TABLEAU X

Température	22°	25°	30°	32°	36°	43°	49°	52°	54°	60°	5 min. à 60°	10 min. à 60°
Raie verte . .	4,23	4,21	4,23	4,23	4,16	4,22	4,22	4,22	4,22	4,28	4,33	4,13
Raie jaune. .	3,67	3,65	3,67	3,65	3,63	3,64	3,66	3,67	3,68	3,71	3,78	3,85
Raie rouge .	2,94		3,07			3,05		3,03				

Il est clair que jusqu'à 52° aucune modification systématique du pouvoir rotatoire ne se produit, aux trois longueurs d'onde employées. La dispersion rotatoire est donc également constante et la dispersion partielle entre les raies jaune et verte, soit : $\alpha_{5461} - \alpha_{5780}$ est égale en moyenne à 0°57. Vingt-quatre heures plus tard, le pouvoir rotatoire de ce même sérum resté dans son tube (et qui, par conséquent avait été soumis au chauffage total indiqué par le tableau X) fut mesuré à nouveau, à la température ambiante, et l'on obtint les valeurs : $\alpha = 4°55$ pour le vert, et $\alpha = 3°90$ pour le jaune. On voit que cette fois le chauffage avait déterminé un phénomène irréversible dans le sérum, l'angle de rotation passant de $\alpha = 4°21$ (moyenne) à 4°55 et de $\alpha = 3°63$ (moyenne) à 3°90. La dispersion rotatoire est affectée elle aussi, et sa valeur partielle $\alpha_{5461} - \alpha_{5780}$ passe à 0° 65 au lieu de 0° 57.

Soupçonnant que les légères variations observées entre 22° et 54° étaient dues à des erreurs de lecture, nous avons répété cette expérience dans de meilleures conditions, sans nous préoccuper de la dispersion, c'est-à-dire sans faire varier la longueur d'onde de la lumière. En laissant l'angle de rotation constant, l'expérimentateur distingue immédiatement les petites différences, quand il s'en produit, mais il n'est plus obligé de refaire l'égalité des plages constamment, dans des couleurs différentes, ce qui entraîne une cause d'erreur variable avec le coefficient personnel.

Les mesures furent toutes effectuées dans le jaune, cette lumière étant la plus couramment employée, en partant de la température de 0° (tableau XI).

TABLEAU XI. *Durée de l'expérience : une heure*

Température	10°	20°	22°	35°	45°	50°
Jaune 5780 Observations . .	4,03	4,03 obscurci	4,03 clair	4,03	4,03	4,03

On peut donc affirmer que le pouvoir rotatoire du sérum pour les raies 5.461 (verte) et 5.780 (moyenne, jaune), est constant, de même que la dispersion rotatoire, de 0° jusqu'à 50° ; *il n'y a pas de coefficient de température*, ce qui indique qu'il ne se

produit pas d'altérations de nature chimique dans les substances en solution pour des temps de chauffage ne dépassant pas trente minutes. Il est extrêmement probable que ceci s'applique à tout le spectre visible, car les quelques mesures qu'il a été possible de réaliser dans le rouge ont été d'accord avec les autres.

Le phénomène d'obscurcissement des plages qui se produit occasionnellement sans cause apparente ou sous l'influence du chauffage, et sur lequel nous aurons l'occasion de revenir, semble être de nature purement physique, et n'affecter en rien les lectures. Un fait curieux est que cet obscurcissement diminue parfois spontanément aussi. On peut imaginer qu'il est lié à un état structural ou dispersif particulier de la solution.

3° *Influence de la température en fonction du temps.*

Ayant établi que le sérum n'était pas affecté optiquement par un chauffage progressif jusqu'à 50°, il restait à étudier l'influence du temps de chauffage, lorsque celui-ci était prolongé. Pour plus de clarté et pour ne pas encombrer ce mémoire de tableaux de chiffres qui ont l'inconvénient de ne pas faire ressortir les résultats globaux d'une expérience, nous ne publierons qu'un petit nombre de protocoles complets, les autres étant remplacés par des courbes qui permettent d'embrasser une série de mesures d'un seul coup d'œil (tableau XII).

TABLEAU XII

Chauffage prolongé à 50° (Exp. n° 20)
Sérum normal de cheval n° 1

Temps	0 (non chauffé)	10 min.	20 min.	40 min.	60 min.	2 heures
	degrés	degrés	degrés	degrés	degrés	degrés
Vert	4,21	4,21	4,29	4,31	4,37	4,35
Jaune	3,68	3,68	3,72	3,72	3,77	3,77
Rouge	2,95	3,03	3,10	3,13	3,13	3,13

On voit par cette expérience que jusqu'à vingt minutes de chauffage la valeur de α est à peu près constante (les différences étant de l'ordre de grandeur des erreurs expérimentales), et

qu'à partir d'une heure, une légère augmentation se produit. Elle est égale, en moyenne, à 0°10. Deux heures de chauffage ne modifient pas ces valeurs. Cette augmentation ne se produit pas toujours, et dans aucune de nos expériences, elle n'a dépassé les

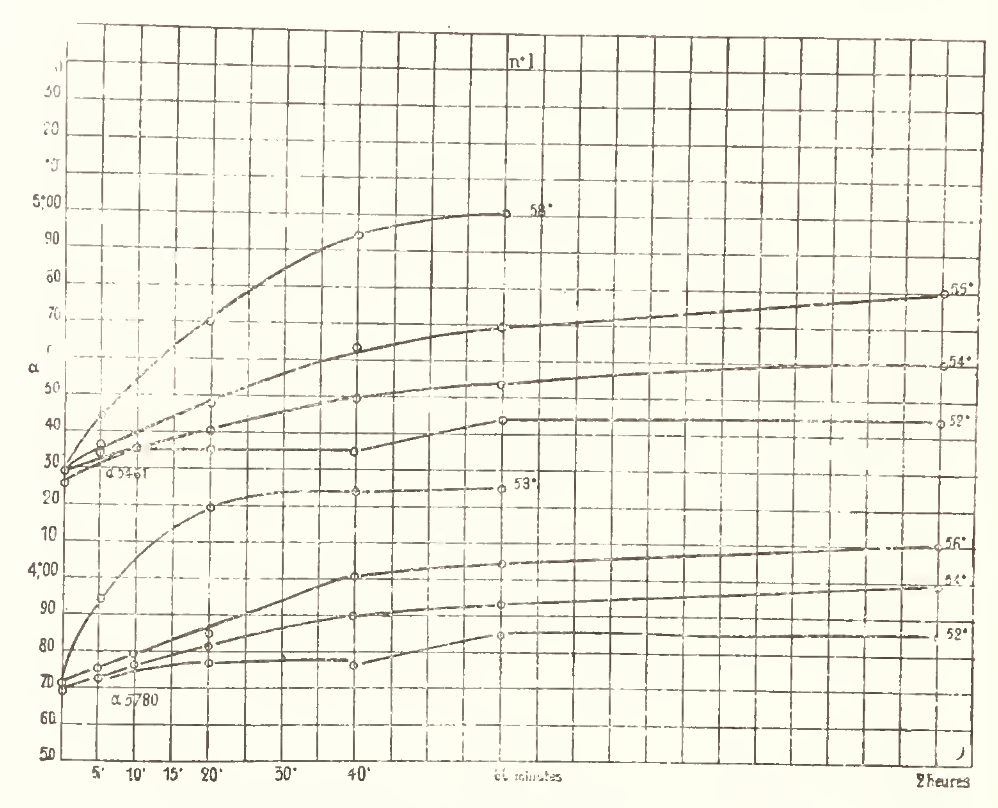


Fig. 18. — Sérum normal de cheval (expérience n° 22). Variations de α en fonction du temps, à différentes températures (de 52° à 58°). λ = 5461 Å et 5870 Å.

valeurs ci-dessus d'une quantité supérieure aux erreurs expérimentales, soit 0°03.

Les résultats du chauffage à 52°, 54°, 56° sont donnés par la figure 18. Dans le but de permettre la comparaison des courbes, elles ont été portées sur une seule figure et, comme la valeur du pouvoir rotatoire du sérum non chauffé n'est pas toujours la même, nous avons déplacé toute la courbe d'une quantité égale à la différence, quand c'était nécessaire, afin de leur donner toutes à peu près le même point de départ. Par exemple, la courbe de 58°, qui présentait le plus gros écart, a été remontée de 0°08.

On voit déjà sur ces courbes qu'à partir de 58° (dans cette expérience) la vitesse du phénomène augmente rapidement.

La figure 19 montre l'allure des courbes entre 60° et 66°. A

partir de 58°, il n'est plus possible de faire des mesures sur du sérum ayant subi un chauffage de soixante minutes et au fur et à mesure que la température s'élève l'obscurcissement des plages apparaît plus rapidement. Ce phénomène limite l'observation, et

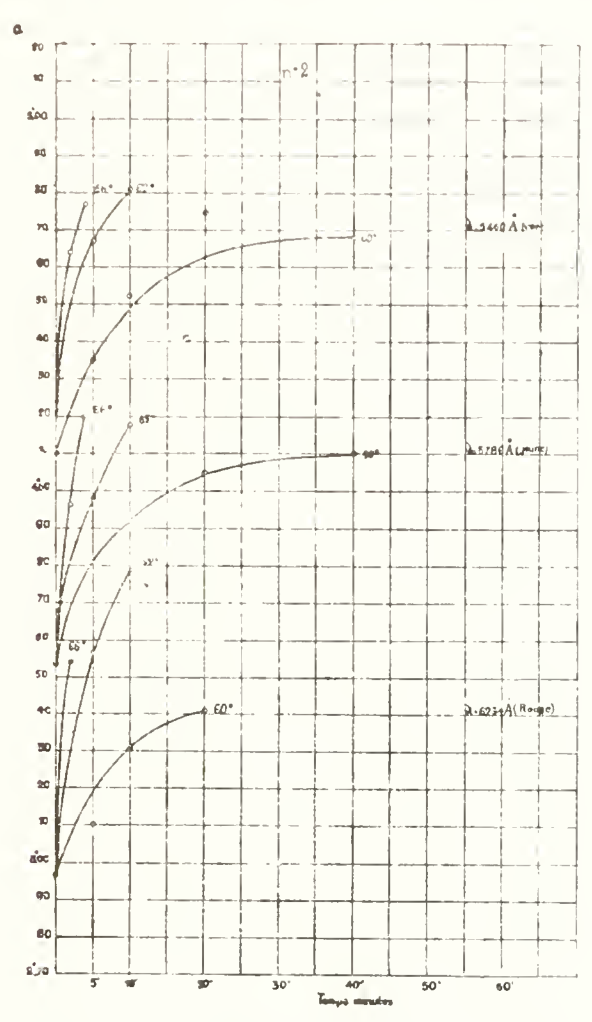


Fig. 19. — Sérum normal de cheval (expérience n° 22 *suite*). Variations de α en fonction du temps, à différentes températures (de 60° à 66°). $\lambda = 5461$, 5780 et 6234 Å.

tout se passe comme si l'angle α ne pouvait s'accroître au delà d'une certaine valeur pour un tube de longueur donnée. Comme nous l'avons déjà fait remarquer ce noircissement est la conséquence du chauffage, mais n'affecte pas les lectures. Lorsqu'un sérum clair s'obscurcit pendant une mesure, ce qui arrive parfois, α conserve la même valeur jusqu'au moment où la lecture devient impossible.

Certains sérums sont normalement opaques, et il arrive par-

fois qu'ils s'éclaircissent spontanément. La figure 20 donne les temps au bout desquels les lectures étaient encore possibles avant l'obscurcissement absolu pour un sérum normal de cheval, après chauffage. L'allure régulière et géométrique de la courbe montre

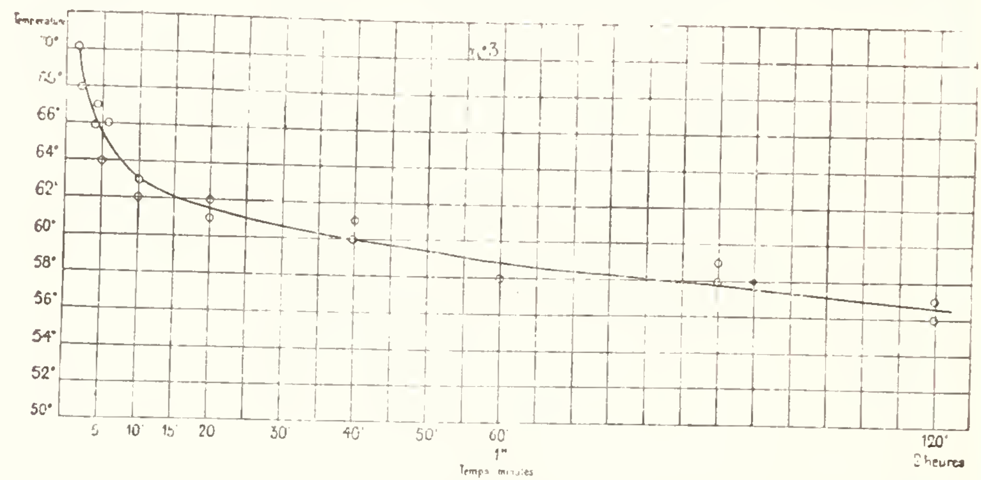


Fig. 20. — Temps au bout duquel les lectures sont encore possibles (limite : tube de 10 cm) avant que le sérum apparaisse noir au polarimètre.

qu'il s'agit là d'un phénomène bien déterminé, corrélatif du chauffage. Mais il nous est impossible, à l'heure actuelle, d'en savoir davantage. Nous nous proposons de reprendre cette question séparément.

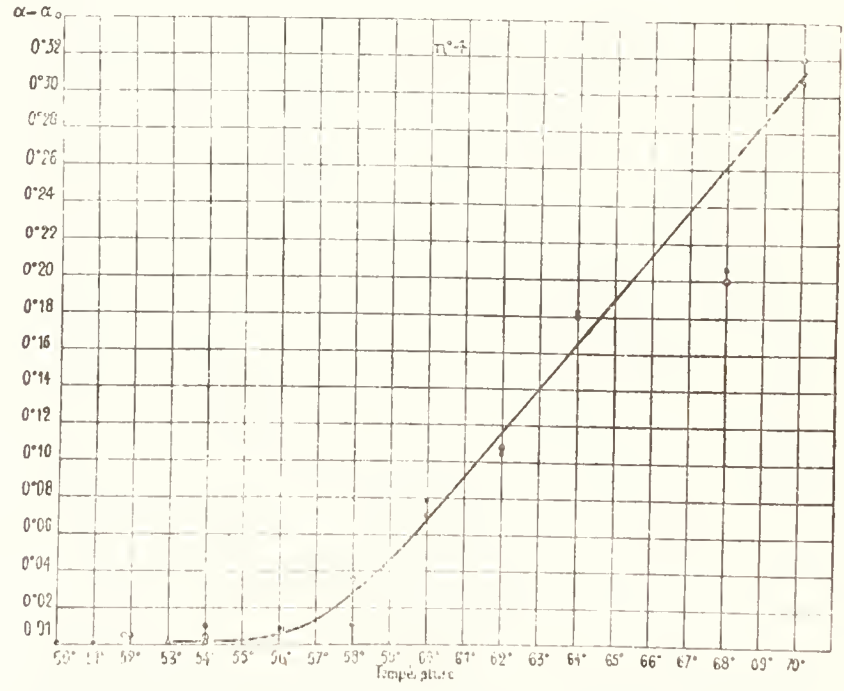


Fig. 21. — Accroissement de α par minute (« vitesse » de modification du pouvoir rotatoire) dans les cinq premières minutes de chauffage.

Afin de mieux faire apercevoir l'allure générale du phénomène d'accroissement du pouvoir rotatoire, nous avons porté sur la figure 21 les accroissements de α en fonction de la température, dans la première minute de chauffage, ce qui peut exprimer la

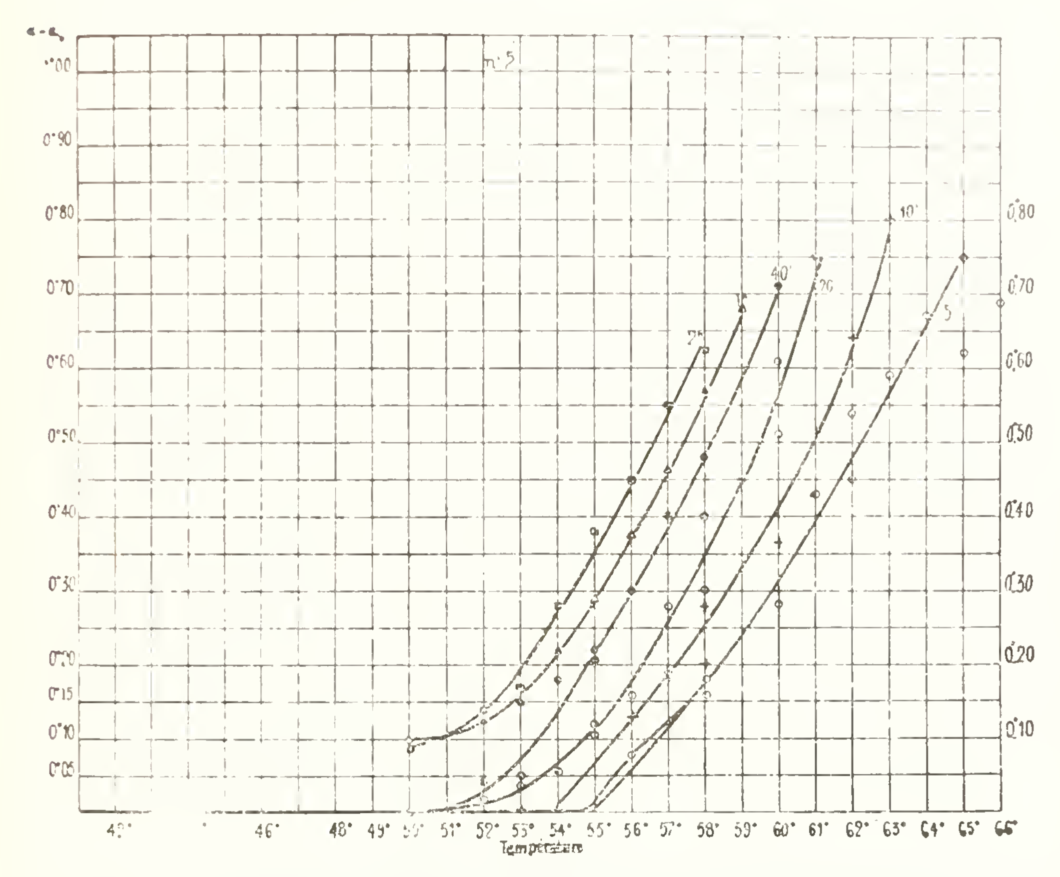


FIG. 22. — Accroissement de α pour des temps différents de chauffage (de cinq minutes à deux heures) en fonction de la température.

vitesse d'augmentation par minute, dans les cinq premières minutes, en admettant conventionnellement que pendant cette période, l'accroissement soit proportionnel au temps. Les chiffres sont simplement obtenus en divisant l'augmentation en cinq minutes par 5. Nous introduisons ainsi une légère erreur, négligeable d'ailleurs dans le cas présent. On voit que c'est aux environs de 57° que la vitesse prend une valeur supérieure aux erreurs expérimentales, et que l'accélération devient à peu près constante vers 58°. Ces faits seront discutés plus loin.

La figure 22 représente pour un sérum normal les accroissements de α pour des chauffages de cinq, dix vingt, quarante, soixante minutes et deux heures. On voit immédiatement que l'altération du sérum consécutive au chauffage dépend moins du

temps de chauffage que de la température. Il faut chauffer *deux heures à 55°* pour obtenir un résultat à peu près égal à celui que donne *cinq minutes à 61°*. Deux heures à 58° équivalent à cinq minutes à 63°.

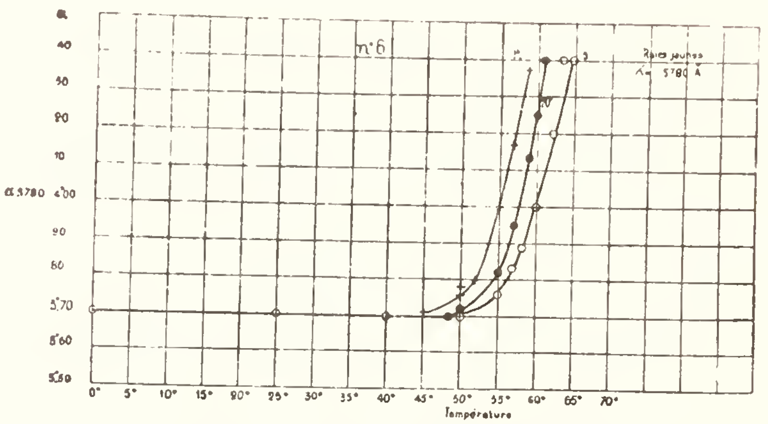


Fig. 23. — Accroissement du pouvoir rotatoire d'un sérum de cheval (α) au bout de 5, 20 et 60 minutes de chauffage, en fonction de la température.

Tous les résultats précédents furent obtenus sur du sérum normal. Il semble que le sérum immunisé se comporte de façon

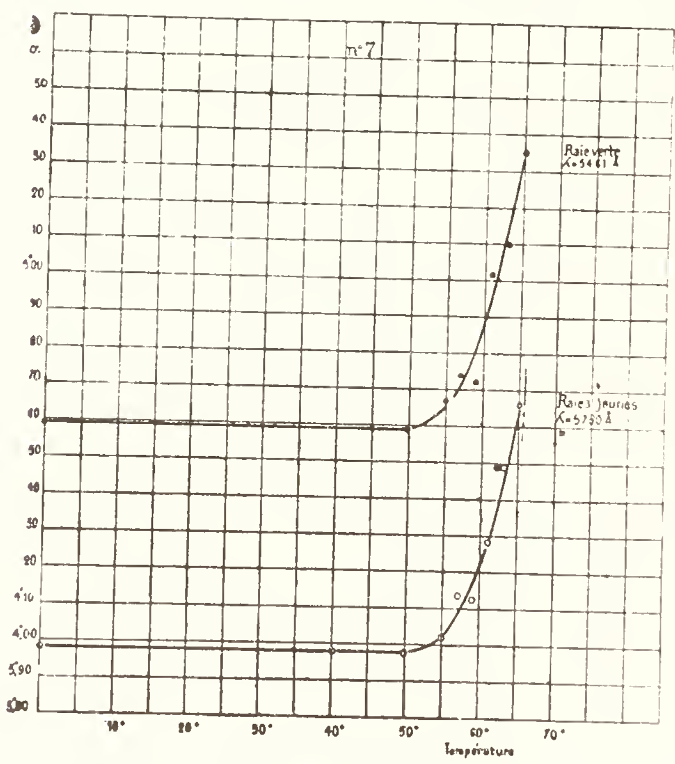


Fig. 24. — Accroissements du pouvoir rotatoire d'un sérum de cheval immunisé (Perfringens), en fonction de la température. Chauffage : cinq minutes.

semblable, comme on peut s'en rendre compte par les figures 24 et 25, comparées à la figure 23. On voit en même temps que l'augmentation absolue du pouvoir rotatoire peut varier considérablement d'un animal à l'autre mais que la vitesse d'accroissement

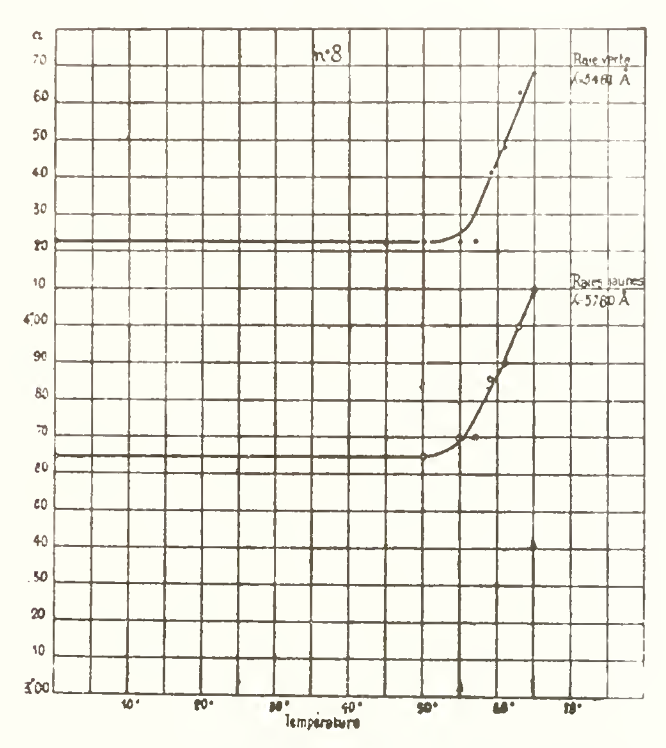


Fig. 25. — Accroissements de α en fonction de la température. Sérum de cheval immunisé (venin de cobra). Chauffage : cinq minutes.

est sensiblement la même. En effet, dans les trois figures 22, 23 et 24, les trois courbes correspondantes sont superposables (chauffage de cinq minutes) si l'on tient compte du décalage dû à des concentrations différentes en protéines. Ces courbes indiquent clairement l'existence de la température critique du sérum [1].

4° *Dispersion rotatoire.* Les figures 24 et 25, dont les courbes ont été obtenues avec des lumières monochromatiques de différentes longueurs d'onde, montrent l'allure générale du phénomène. Si nous convenons d'appeler, comme nous l'avons fait plus haut, dispersion rotatoire partielle, la différence entre les valeurs

(1) Un sérum maintenu 48 heures à l'étuve à 38° ne manifeste pas d'accroissement de α supérieur aux erreurs d'expérience (cheval). Au bout de 96 heures, bien que parfaitement clair à l'œil nu, il est généralement tout à fait obscur au polarimètre et la mesure est impossible.

de α en lumière monochromatique verte ($\lambda = 5.461$) et en lumière monochromatique jaune (λ moyen $= 5.780$), nous obtenons comme valeur moyenne de vingt-deux séries d'expériences le chiffre $\alpha_{5461} - \alpha_{5780} = 0°\ 543$ (tableau XIII).

Tableau XIII

Valeurs observées de la dispersion rotatoire partielle

Sérum normal de cheval	
en degrés	en degrés
—	—
0,48	0,41
0,41	0,55
0,55	0,54
0,53	0,57
0,57	0,57
0,60	0,56
0,49	0,60
0,53	0,56
0,53	0,52
0,65	0,55
0,55	0,54

Moyenne = 0,543.

Le tableau XIV donne les valeurs de $\alpha_{5461} - \alpha_{5780}$ obtenues avec des sérums chauffés. L'effet étant assez faible, nous avons réuni dans ce tableau les valeurs les plus hautes ayant précédé, dans chaque expérience, l'obscurcissement. Ces valeurs correspondent à des temps et des températures de chauffage très divers. On voit que néanmoins l'accroissement de la dispersion rotatoire partielle varie relativement peu. Exceptionnellement, nous avons observé une valeur de 0° 90 pour un chauffage de trois minutes à 67° et une valeur basse de 0° 48 pour un chauffage de deux minutes à 70°. Il est impossible à l'heure actuelle de comprendre clairement le mécanisme de ces phénomènes, et nous devons nous contenter de constatations statistiques très approximatives.

TABLEAU XIV

Numéros	Température en degrés	Temps de chauffage en heures	$\alpha_{5461} - \alpha_{5780}$ en degrés
1	54	2,00	0,61
2	56	2,00	0,61
3	56	2,00	0,61
4	57	2,00	0,60
5	58	1,30	0,66
6	58	1,00	0,65
7	59	1,30	0,76
8	59	1,00	0,71
9	60	0,20	0,70
10	61	0,40	0,71
11	61	0,20	0,71
12	61	0,20	0,75
13	61	0,20	0,71
14	61	0,05	0,66
15	62	0,05	0,66
16	63	0,05	0,71
17	64	0,05	0,75
18	64	0,05	0,73
19	65	0,05	0,71
20	66	0,05	0,66
			13,79 : 20 = 0,689

Il est évident qu'il s'est produit un accroissement de la dispersion rotatoire partielle, puisque sa valeur moyenne pour le sérum non chauffé est de 0°543, et pour le sérum chauffé, de 0°689, soit une différence de 0°146.

Discussion. — Les résultats précédents sont particulièrement intéressants quand on les rapproche des résultats que nous avons rapportés dans le chapitre précédent concernant la viscosité du sérum en fonction de la température. Il suffit pour s'en rendre compte de jeter un coup d'œil sur la figure 26 où sont réunies deux courbes, l'une exprimant les variations de la viscosité ; l'autre, celles du pouvoir rotatoire, en fonction de la température.

Nous distinguons en effet un parallélisme frappant entre les deux séries d'expériences : à partir de 52° une légère déviation se produit dans la courbe de viscosité. A partir de la même tempé-

rature, on observe une faible augmentation du pouvoir rotatoire. Vers 55°-57° on remarque que la viscosité cesse de diminuer. A la même température, le pouvoir rotatoire commence d'augmenter nettement. A partir de 58°, la viscosité augmente et vers 61-

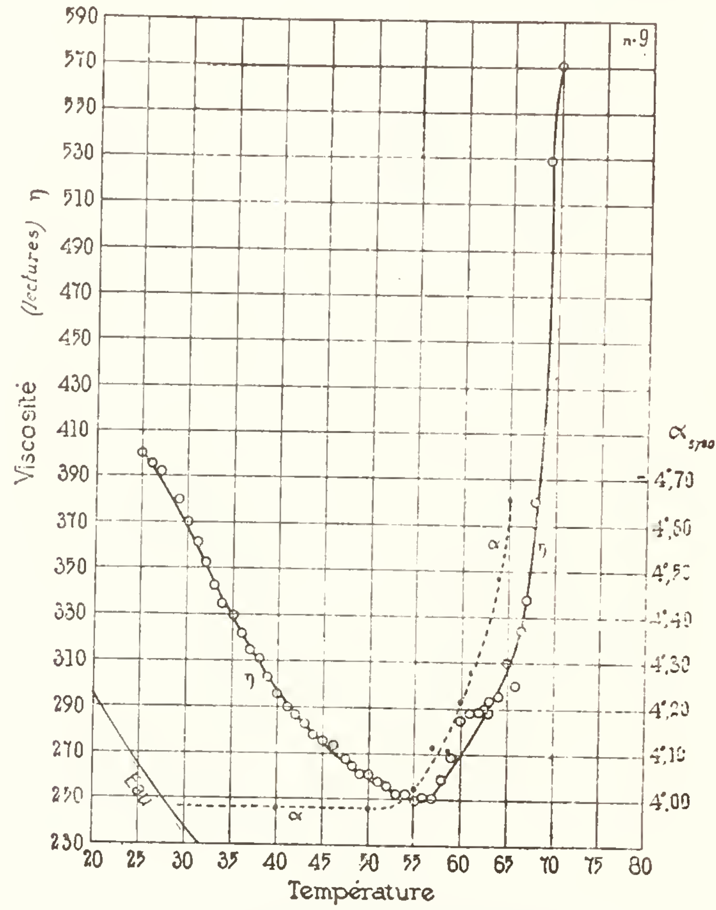


Fig. 26. — Courbes de viscosité et de pouvoir rotatoire de sérum en fonction de la température. On remarquera le parallélisme des courbes à partir de 55°-57°. Le phénomène chimique, révélé par l'accroissement de la viscosité.

62°, l'augmentation devient très rapide : l'accroissement du pouvoir rotatoire suit la même marche ascendante. Mais les deux phénomènes présentent un léger décalage, le phénomène de rotation du plan de polarisation précédant toujours le phénomène de viscosité.

Or, la courbe de viscosité représente un ou plusieurs phénomènes physico-chimiques : fixation de molécules d'eau, peut-être agglomération des molécules en micelles [1], etc. La courbe pola-

[1] Nous verrons plus loin les raisons qui nous ont conduits à ne pas admettre ce dernier mécanisme comme facteur important.

rimétrique représente un ou plusieurs phénomènes chimiques, c'est-à-dire affectant la structure et les propriétés physiques et chimiques des molécules du sérum. On peut dire sans crainte qu'il est extrêmement probable que *les altérations structurales révélées par le polarimètre sont à la base des modifications de la viscosité*, et en particulier de l'existence du minimum absolu. Mais elles sont, de plus, l'origine des profonds changements dans les propriétés biologiques du sérum.

Un phénomène optique nouveau, qui se manifeste par le noircissement des plages du polarimètre, limite les lectures, et tout se passe comme si l'angle de rotation ne pouvait augmenter au delà d'une certaine limite imposée par cet obscurcissement qui n'est perceptible qu'en lumière polarisée; pratiquement l'augmentation ne dépasse guère 0° 70 à 0° 80. Dans un cas exceptionnel, nous avons observé un accroissement de 1°. Ce phénomène correspond sans doute à l'état structural du sérum. Il n'affecte pas la valeur de α et, ainsi que nous l'avons déjà dit, nous avons observé parfois un obscurcissement suivi d'éclaircissement, sans que la lecture au cadran ait changé.

Le problème qui se pose maintenant est simple à énoncer, mais difficile à résoudre. Quelle est la nature de la modification structurale introduite dans le sérum : affecte-t-elle la partie protéique de la molécule complexe de sérum, ou bien une autre partie?

Consiste-t-elle en une destruction d'éléments dextrorotatoires, ou bien en une libération d'éléments lévorotatoires? Ces questions sont d'importance fondamentale, car leur solution jetterait de la lumière sur certaines propriétés de la substance vivante, en général, pour laquelle cette température de 55-60° est également critique.

CHAPITRE V

Densité optique (absorption) et lumière diffusée en fonction de la température

Les résultats fournis par les mesures de viscosité nous ont conduit à admettre une augmentation de volume des molécules au détriment de l'eau environnante, comme conséquence du chauffage. D'autre part, elles ne nous ont pas permis de vérifier expérimentalement des accroissements de volume spécifique, c'est-à-dire des hydratations, supérieurs à 327 %.

Que se passe-t-il au delà? Rien ne nous prouve que le phénomène d'hydratation continue jusqu'à la coagulation. Il était donc intéressant, d'abord d'essayer de vérifier par une autre méthode expérimentale l'exactitude de notre hypothèse, et ensuite de tenter de dépasser la limite imposée par la méthode précédente. Dans ce but nous fîmes appel à deux méthodes optiques basées sur l'estimation de la quantité de lumière diffusée et absorbée.

Il était en effet probable que, le volume des molécules augmentant de façon importante, la quantité de lumière diffusée et la quantité de lumière absorbée subiraient un accroissement qui serait fonction de l'accroissement de volume. Dans le but de nous en assurer, nous avons donc mesuré, d'une part le rapport de la quantité de lumière transmise, d'autre part le rapport de la quantité de lumière diffusée latéralement, à la quantité de lumière incidente. En d'autres termes, dans le premier cas nous avons mesuré l'*opacité*, ou plus exactement la densité optique du sérum, entre 20° et 70° ; et dans le second cas, l'intensité de la lumière

diffusée à angle droit par les molécules et les particules colloïdales (lumière de Tyndall), aux mêmes températures.

*
* *

Dispositif expérimental [1]. Nous avons employé le photomètre Vernes, Bricq et Yvon, construit par Jobin. Cet appareil est trop connu pour qu'il soit nécessaire de donner sa description. Les travaux des auteurs de l'instrument ont montré qu'il y avait intérêt à travailler en lumière monochromatique de grande longueur d'onde. Pour cette raison on emploie des écrans rouges (α et F de Wratten) dont l'un (α) donne une lumière pratiquement monochromatique, et dont l'autre, d'un rouge plus clair, permet à une plus grande quantité de lumière de passer, mais avec une sélectivité moindre. Le premier écran (α) fut employé exclusivement pour la mesure de la transmission (densité). Le second fut réservé à la mesure de la diffusion, la quantité de lumière diffusée à angle droit étant beaucoup plus faible que la quantité transmise directement. Dans les deux cas le faisceau lumineux, après avoir traversé le liquide ou après sa diffusion, est comparé au faisceau normal auquel on fait subir au besoin des diminutions d'intensité connues au moyen d'écrans rouge de densité bien déterminée. Il est évident que la quantité de lumière diffusée sera d'autant plus grande que les particules en suspension seront plus grosses, plus opaques ou plus nombreuses ; le cône de Tyndall est d'autant plus intense que la solution est plus riche en colloïdes. Au contraire, la quantité de lumière qui traverse le liquide est évidemment d'autant plus grande que le liquide est plus clair. Les *lectures*, dans le cas d'une opacité croissante, fournissent donc des chiffres qui varient *en sens inverse* de la densité.

Les mesures s'effectuaient de la façon suivante : si pour réaliser l'égalité des plages, on a dû introduire sur le faisceau de droite par exemple, celui qui traverse la cuve, une surcharge de densité D, et sur celui de gauche — celui qui traverse les coins au moyen desquels on établit l'égalité — une surcharge de densité g et si, en outre, on a dû amener le coin à la division N, la densité δ de l'absorbant étudié est donné par la formule :

[1] LECOMTE DU NOÜY, *Ann. Inst. Pasteur*, **44**, p. 109, 1930.

$$\delta = 0{,}62 + 0{,}017 \times N + g - D.$$

Les densités des différentes surcharges, dans l'appareil employé ont les valeurs suivantes :

Sur le faisceau de gauche :

$$A_g = 1{,}41 ; \qquad B_g = 2{,}41 .$$

Sur le faisceau de droite :

$$A_d = 1{,}50 ; \qquad B_d = 2{,}19 .$$

Cette formule s'applique au cas où l'on emploie l'écran rouge foncé, α. Dans le cas où l'on emploie l'écran F, la valeur trouvée pour δ doit être multipliée par le coefficient 1,15.

Etant donné que les auteurs emploient indifféremment le coefficient de réduction, l'opacité, la densité, le coefficient d'absorption ou le coefficient d'extinction pour exprimer leurs résultats, il ne nous semble pas inutile de rappeler la signification de ces différentes grandeurs.

1° Le *coefficient de réduction* exprimé par r est égal à :

$$r = \frac{I}{I_0}$$

I_0 étant l'intensité du flux incident, et I celle du flux émergent.

On l'appelle aussi coefficient de transmission.

2° L'*opacité* s'exprime par :

$$W = \frac{1}{r} = \frac{I_0}{I}$$

3° La *densité* δ par :

$$\delta = \log W = \text{colog}\, r = \log \frac{I_0}{I}$$

4° Le *coefficient d'absorption* K, est défini par

$$I = I_0\, e^{-Kl}$$

l étant l'épaisseur de l'absorbant en centimètres. Toutes les cuves employées ayant 1 centimètre d'épaisseur nous avons (M étant le module classique 0,434) :

$$\delta = \log \frac{I_0}{I} = MK \text{ et } K = \frac{1}{M}\,\delta, \text{ or } \frac{1}{M} = 2{,}30 .$$

Le coefficient d'absorption n'est donc autre que la densité multipliée par la constante 2,30.

5° Le *coefficient d'extinction*, surtout employé en Angleterre et en Amérique, est numériquement égal à l'inverse de l'épaisseur capable de réduire l'intensité de la lumière à 1/10 de sa valeur. On démontre que ce coefficient s'exprime par le logarithme négatif de l'intensité de la lumière transmise, quand l'épaisseur de la cuve est de 1 centimètre.

Dans l'exposé de ces recherches, nous emploierons exclusivement la densité pour exprimer nos résultats expérimentaux. Cette quantité présente l'avantage d'être commode à manier et d'avoir une signification claire. En effet, un absorbant de densité 2 a une opacité de 100 et un coefficient de réduction de 1/100. C'est-à-dire qu'il ne laisse passer que 1/100 de la lumière incidente. Un absorbant de densité 3 aura une opacité de 1.000, et ainsi de suite.

On ne perdra pas de vue le fait que δ est un logarithme, c'est-à-dire qu'une valeur de $\delta = 1.602$ par exemple, exprime une densité *double* de celle de $\delta = 1.301$ (1). Cette notation est tout à fait semblable à celle couramment employée pour le pH.

Expériences

Chauffage du sérum : Le sérum — environ 5 cent. cubes — était recueilli après exsudation et centrifugé immédiatement, pendant cinq minutes à 9.000 tours. En général il était conservé à la glacière en tubes bouchés jusqu'au lendemain matin. Des expériences faites le jour même de la saignée, c'est-à-dire environ cinq heures après, ont donné des valeurs semblables. Le sérum était ensuite distribué en ampoules de 5 cent. cubes environ, fermées au chalumeau, et porté à la température désirée dans de grandes bouteilles Thermos remplies d'eau, et munies d'un agitateur. La température était maintenu constante par une résistance électrique immergée. Les variations au cours d'un chauffage d'une heure, ne dépassaient pas ± 0°25.

Dans les tableaux XV à XVIII, δ et D indiquent les valeurs du rapport $\log \frac{I_0}{I}$ en lumière transmise et en lumière diffusée.

(1) Le logarithme de 2 étant égal à 0,301, et l'addition de ce nombre à un logarithme étant équivalente à la multiplication par 2 du nombre représenté par le logarithme.

TABLEAU XV (Expérience n° 2)

Sérum de cheval frais chauffé pendant cinq minutes

Absorption			Diffusion	
Ecran : α Surcharges : O à gauche — A à droite			Ecran : F Surcharges : B à gauche — O à droite	
Température en degrés	Lecture	δ	Lecture	D
20 . . .	57,5	0,10	120	5,84
40 . . .	59,5	0,13 ?	112	5,67 ?
50 . . .	57,0	0,09	120	5,84
55 . . .	57,0	0,09	124	5,85
57 . . .	57,0	0,09	125	5,94
58 . . .	57,0	0,09	125	5,94
62 . . .	58,0	0,10	100	5,41
64 . .	60,0	0,14	86	5,16
66 . . .	63,0	0,19	74	4,94
70 . . .	»	»	Coag. 45	4,36

TABLEAU XVI (Exp. n° 3)

Sérum de cheval normal chauffé pendant dix minutes

Absorption			Diffusion	
Ecran : α Surcharges : O à gauche — A à droite			Ecran : F Surcharges : B à gauche — O à droite	
Température en degrés	Lecture	δ	Lecture	D
Non chauffé (glacière)	57,5	0,10	126	5,95
Non chauffé (chambre)	57,5	0,10	126	5,95
50	60,0	0,14	124	5,85
55	58,5	0,14	119	5,78
57	58,5	0,14	125	5,94
58	58,0	0,10 ?	125 ?	5,94
60	59,5	0,13	104	5,46
62	61,5	0,16	85	5,14
64	63,5	0,20	73	4,94
66	65,0	0,22	62	4,70
68	»	»	Coag. 42	4,24

Le tableau XV et la figure 27 expriment les résultats obtenus par un chauffage de cinq minutes à des températures échelonnées entre 30° et 70°. Le tableau XVI et la figure 28 donnent les résultats obtenus par un chauffage de 10 minutes. Ici, on ne put pousser les mesures jusqu'à 70° à cause de la coagulation du sérum. Les deux premières lignes du tableau indiquent les valeurs fournies par le sérum de vingt-quatre heures.

Tableau XVII (Expér. n° 4)

Sérum de cheval normal chauffé pendant vingt minutes

(Fig. 29)

Absorption			Diffusion	
Ecran : α Surcharges : O à gauche — A à droite			Ecran : F Surcharges : B à gauche — O à droite	
Température en degrés	Lecture	δ	Lecture	D
20 . . .	57,5	0,10	125	5,94
50 . . .	60,0	0,14	125	5,94
55 . . .	59,0	0,12	125	5,94
57 . . .	57,0	0,09	110	5,64
58 . . .	60,0	0,14	97	5,38
60 . . .	60,0	0,14	84	5,13
64 . . .	67,0	0,26	61	4,74
66 . . .	Coag. 115,0	1,07	37	4,21
68 . . .	120,0	1,16	39	4,25

On voit que, de même que dans le tableau XV, la densité en lumière transmise, ne commence d'augmenter que vers 60°.

Au contraire, l'accroissement de la lumière diffusée débute entre 53° et 55°. Parfois (fig. 27 et 28), on constate une légère diminution de la lumière diffusée à 50° et 55°, suivie d'un accroissement qui est ensuite constant. Nous rappelons à nouveau que la courbe inférieure représentant l'absorption, l'augmentation de densité optique, monte vers des valeurs plus hautes en exprimant l'opacité croissante, tandis que la courbe supérieure, qui descend,

exprime l'augmentation de la lumière diffusée par rapport à la lumière incidente. Les courbes sont forcément inverses. Il faut

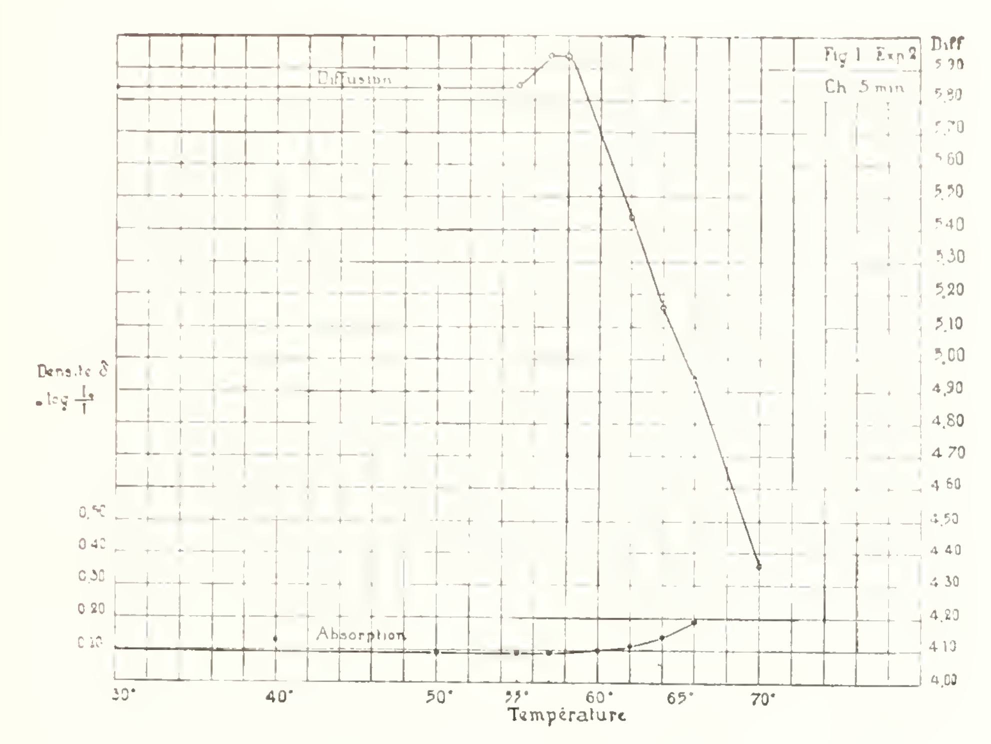


Fig. 27. — Courbes d'absorption et de diffusion de la lumière. Sérum normal chauffé pendant cinq minutes.

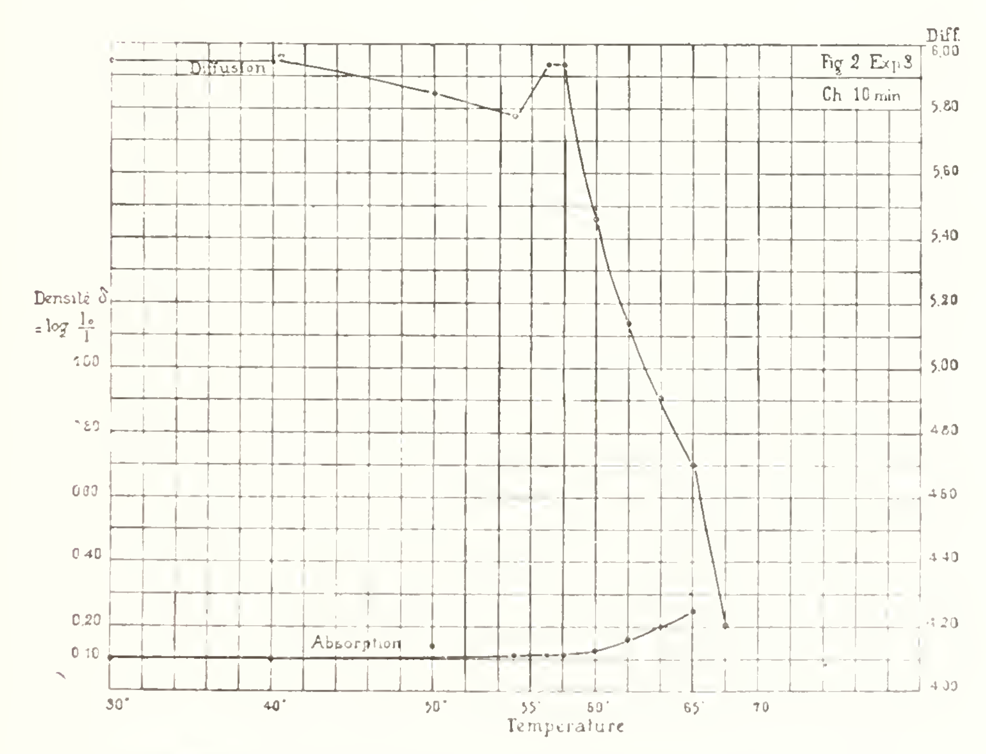


Fig. 28. — Courbes d'absorption et de diffusion de la lumière. Sérum normal chauffé pendant dix minutes.

également noter les différences d'échelles. Pour la densité δ (opacification) le rapport $\frac{I_0}{I}$ varie entre 1 et 20 à peu près, tandis que le même rapport atteint 1.000.000 pour la lumière diffusée qui est toujours très faible.

La diminution préalable ne se produit pas toujours (voir expérience n° 4, tableau XVII).

Tableau XVIII (Expér. n° 6)

Sérum de cheval normal chauffé pendant une heure

(Fig. 30)

Absorption			Diffusion	
Ecran : α Surcharges : O à gauche — A à droite			Ecran F Surcharges : B à gauche — O à droite	
Température en degrés	Lecture	δ	Lecture	D
20 . . .	57,5	0,10	125	5,94
50 . . .	57,5	0,10	125	5,94
55 . . .	57,5	0,10	114	5,72
57 . . .	58,0	0,10	110	5,44
58 . . .	60,5	0,15	90	5,25
60 . . .	65,5	0,23	68	4,82
62 . . .	Coag. 130,0	1,33	60	1,62

Au-dessous de 64°, la densité ne montre que de faibles accroissements sauf pour des chauffages de l'ordre de quarante minutes ou une heure. Les courbes mettent bien en évidence la grande sensibilité du phénomène de diffusion.

Les figures 31 et 32, où deux séries d'expériences complètes sont résumées, montrent clairement les différences entre les deux méthodes. Dans le cas de la figure 31 (courbes de densités en fonction de la température) on voit que jusqu'à 60° l'augmentation est assez faible. Mais pour des chauffages prolongés, elle fait un bond considérable au delà de 60°. On pourrait presque se demander si cette différence soudaine ne serait pas due à un phéno-

même différent de celui qui détermine l'accroissement progressif de la densité. Au contraire, dans le cas de la figure 32 (diffusion),

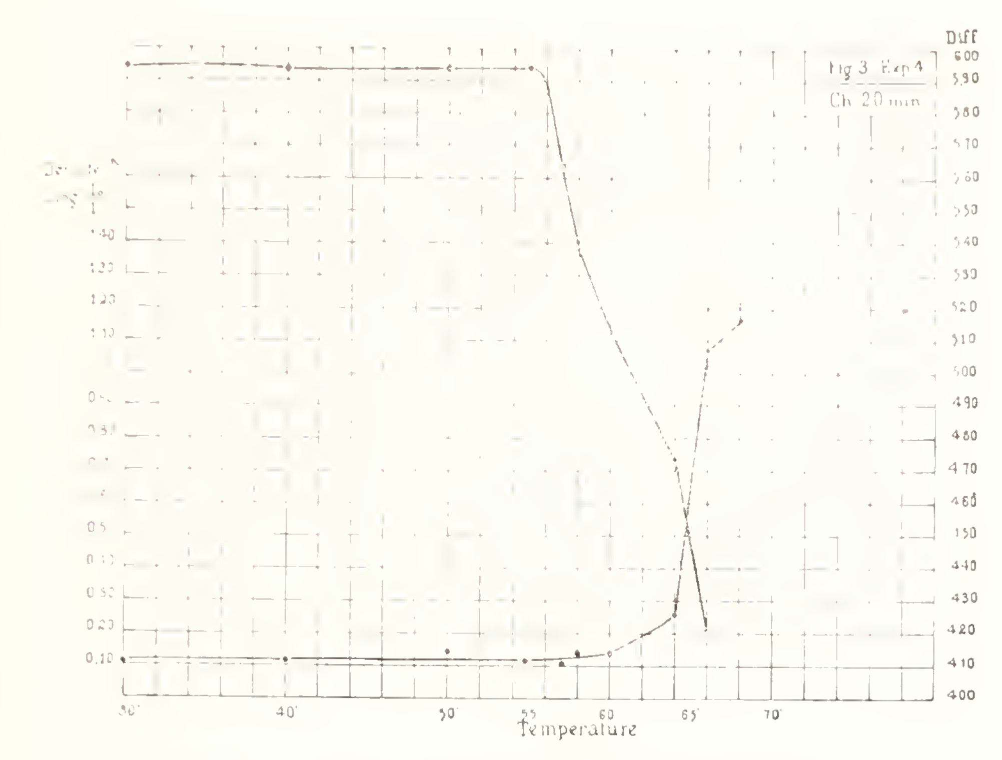


FIG. 29. — Courbes d'absorption et de diffusion de la lumière. Sérum normal chauffé pendant vingt minutes.

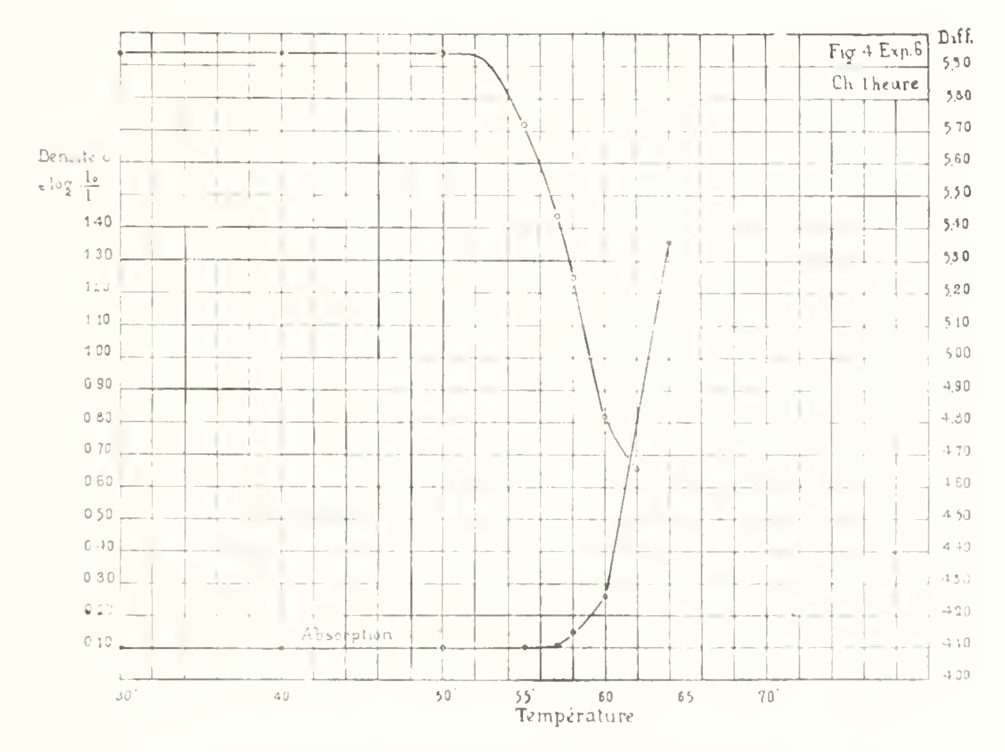


FIG. 30. — Courbes d'absorption et de diffusion de la lumière. Sérum normal chauffé pendant une heure.

on n'observe pas de pareil saut. Néanmoins, on constate souvent, après coagulation, une faible accélération dans la courbe représentant la lumière diffusée : la courbe s'infléchit à partir de 66° (fig. 28), de 65° (fig. 29).

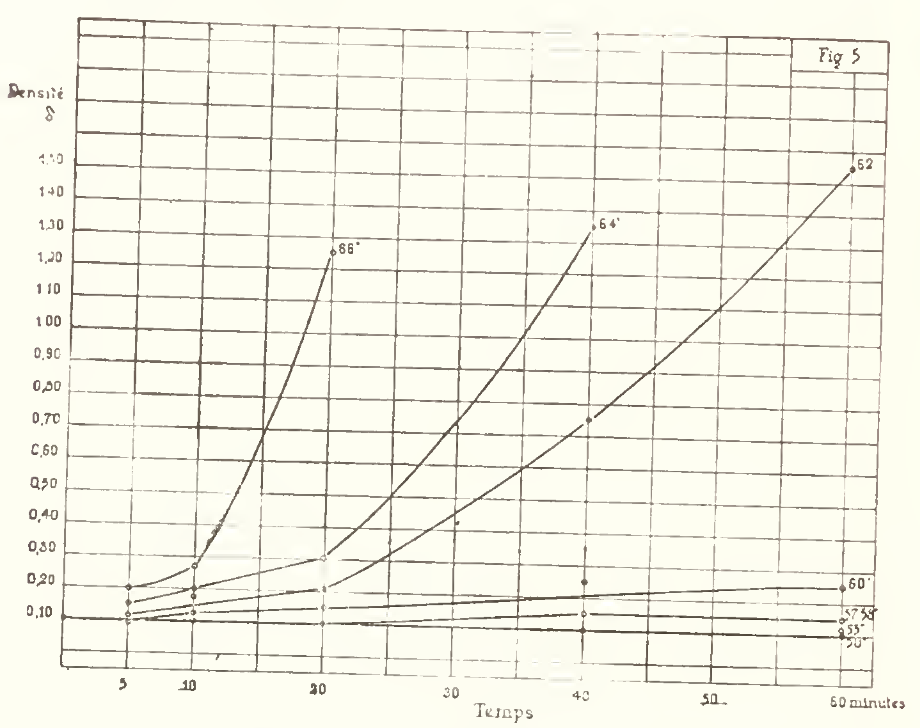


Fig. 31. — Densité optique du sérum de cheval normal en fonction du temps de chauffage, à différentes températures.

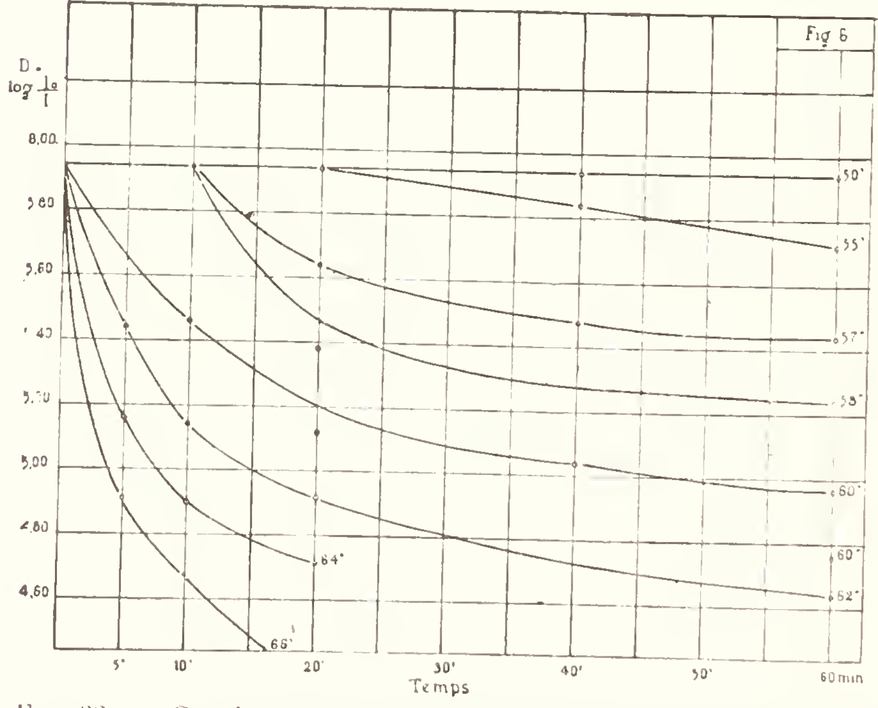


Fig. 32. — Courbes exprimant la quantité de lumière diffusée par le sérum en fonction du temps à différentes températures.

L'aspect des courbes (fig. 27 à 30) permet de se rendre nettement compte des phénomènes. Il est clair que la mesure de la diffusion est une méthode beaucoup plus sensible que la mesure de la densité pour étudier dans un sérum les modifications subies

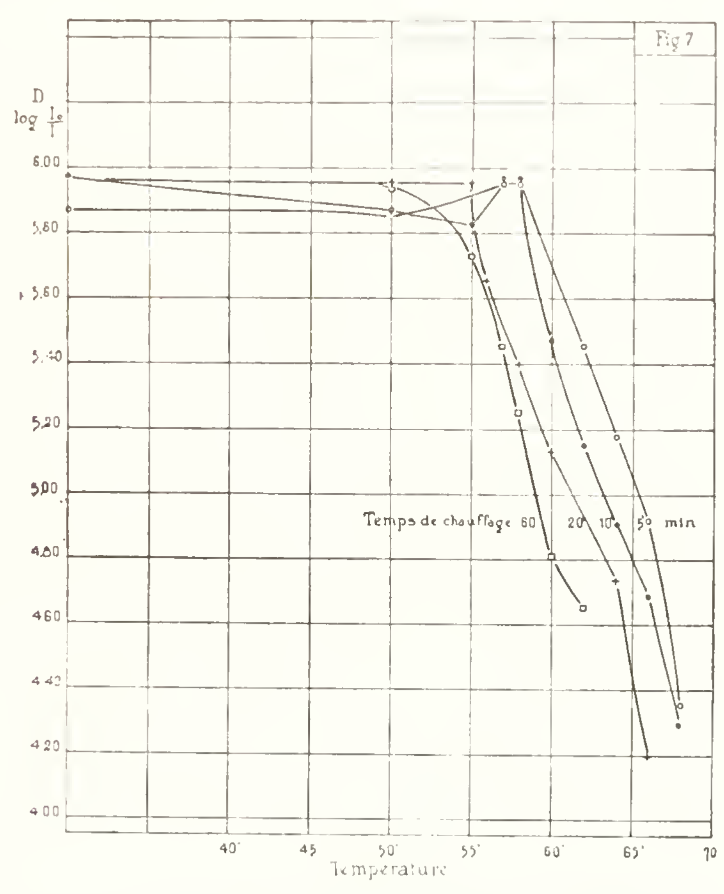


FIG. 33. — Diffusion en fonction de la température pour des temps de chauffage différents.

par les protéines sous l'influence de la chaleur par exemple, et de bien d'autres facteurs probablement.

Il ne faut pas oublier d'ailleurs que diffusion et absorption sont des phénomènes tout différents qui n'expriment pas, à notre échelle, des phénomènes moléculaires identiques [1].

La chute très nette et rapide de la courbe après que la température a dépassé 57°, pour cinq et dix minutes de chauffage, est remarquable. En effet, les chiffres représentant des logarithmes ne permettent pas d'apprécier l'amplitude du phénomène, mais prenons par exemple le tableau XVII (fig. 29), chauffage de

[1] Voir à ce sujet : BOUTARIC (A.), *Rev. d'Opt.*, **2**, 145 (1932).

vingt minutes. Nous voyons qu'entre 55° et 57° la quantité de lumière diffusée latéralement a doublé. Entre 55° et 58° elle a presque quadruplé. Enfin elle est près de seize fois plus grande (15,8 fois) quand le sérum a été porté à 64°, et cinquante fois plus à 66°.

Vingt minutes de chauffage à 66° déterminent la coagulation, et la quantité de lumière diffusée monte à près de 54 fois sa valeur pour le même temps de chauffage à 55°. Pour ne prendre que les chiffres extrêmes, la densité entre 55° et 64° n'était devenue que 1,35 fois plus grande. La figure 33, qui permet de comparer entre eux les résultats des expériences précédentes, montre que l'influence de la durée du chauffage, comme dans les phénomènes précédents, viscosité et pouvoir rotatoire, consiste simplement à *décaler* les courbes vers la gauche.

Nous retrouvons donc encore une fois un phénomène indiquant une profonde perturbation du sérum chauffé vers 55-57°. Nous avons établi précédemment que cette perturbation physique avait une origine chimique, et nous avons interprété l'accroissement de la viscosité au delà de 58°, comme dû à l'augmentation de volume par hydratation des particules. Nous avons, dans les expériences relatées dans le présent chapitre, une nouvelle preuve de l'augmentation considérable du volume des molécules ou des micelles qui se forment dans le sérum sous l'influence du temps et de la chaleur, puisque jusqu'ici nous n'avons encore aucune preuve qu'il ne se produit pas d'agrégation. Les mesures de viscosité n'avaient pas mis le phénomène en évidence aussi nettement, malgré la sensibilité de la méthode, et ne permettaient pas de se faire une idée de l'augmentation quantitative de la dimension des particules, ce qui devient possible maintenant, en raisonnant de la façon suivante : J. W. Strutt (Lord Rayleigh) a montré dans ses importants travaux sur le phénomène de Tyndall [1] que l'intensité de la lumière diffusée est directement proportionnelle au carré du volume des particules, et inversement proportionnelle à la quatrième puissance de la longueur d'onde. La formule complète à

[1] J.-W. Strutt, *Phil. Mag.*, 1871, **41**, pp. 107, 271, 447 ; 1881, **12**, 1889, p. 81 ; **47**, p. 375.

laquelle il arrive finalement (pour la lumière diffusée à angle droit) est :

$$\text{I (lumière diffusée)} = \frac{9\pi^2 V^2 A^2}{\lambda^4 r^2} \left(\frac{n_1^2 - n^2}{n_1^2 + 2n^2} \right)^2. \qquad (1)$$

Cette formule peut être simplifiée pour les besoins de la cause, lorsque les mesures sont effectuées dans des conditions bien déterminées et constantes, et l'on arrive à l'équation :

$$I = CV^2 \left(\frac{n_1^2 - n^2}{n_1^2 + 2n^2} \right)^2$$

où C est une constante, V^2 le carré du volume d'une particule ; n_1 et n les indices de réfraction de la particule et du solvant [1]. Or, nous avons montré que l'indice de réfraction du sérum chauffé ne variait pas ou très peu, pour des chauffages de l'ordre de dix minutes aux environs de 60°. Mais l'indice de la particule doit diminuer au fur et à mesure que le volume augmente (par suite de l'hydratation). La quantité de lumière diffusée ne peut augmenter que si le premier terme du second membre de l'équation contrebalance le second terme (entre parenthèses) [2].

(1) Voir E. HATSCHEK et HUMPHRY, *Trans. Faraday Soc.*, **20**, part I (1924) ; KRISHNAMURTI, *Proc. Roy. Soc.*, 1929, A. **122**, p. 76.

(2) Voir FREUNDLICH, *Colloid and Capillary Chemistry*, Dutton, New-York, 1926, pp. 380 et suiv. (traduction anglaise).

Il est très probable que, dans le cas de chauffage suffisant pour déterminer une apparence d'hétérogénéité dans le sérum (trouble laiteux), le facteur entre parenthèses représentant l'effet dû aux variations de l'indice de réfraction, que nous avons négligé, entre en jeu. Nous n'en avons pas tenu compte pour deux raisons principales. La première est que des mesures d'indice du sérum chauffé jusqu'à 70° n'ont pas montré de grosses différences, comme on peut s'en rendre compte par les chiffres suivants :

Sérum pur, de cheval normal, expérience 45 (19 fév.)

Non chauffé, centrifugé le 15 fév.	= 1,31910	(T = 22°)
Non chauffé, centrifugé le 18 fév.	= 1,31958	»
Chauffé :		
Une heure à 57°	= 1,31917	»
Une heure à 59°	= 1,31917	»
Vingt minutes à 61°	= 1,31936	»
Cinq minutes à 65°	= 1,31910	»
Deux minutes à 70°	= 1,31951	»

Les variations ne portent que sur la 4e décimale.

Le même sérum dilué donne, dans les mêmes conditions, des valeurs sensiblement constantes (à 25 %, n_D = 1,33789).

La deuxième raison est que, pour tenir compte de ce facteur, il faudrait déterminer séparément les valeurs de n_1 (indice de réfraction des parti-

Comme on devait s'y attendre, c'est ce qui se passe, et nous pouvons arbitrairement supprimer ce second terme sans intro-

cules), ce qui représente des difficultés considérables et n'irait pas sans introduire de graves causes d'erreur (voir plus loin)

On peut d'ailleurs se faire une idée de l'ordre de grandeur de ce facteur en effectuant le calcul pour des chiffres arbitraires. On peut admettre, hypothétiquement, que l'hydratation diminue l'indice n_1 des molécules.

Le facteur :

$$F = \left(\frac{n_1^2 - n^2}{n_1^2 + 2\,n^2}\right)^2$$

diminuerait donc par suite du chauffage.

En prenant $n = 1{,}3510$ pour l'eau salée à 17°, et une valeur arbitraire $n_1 = 1{,}3700$ pour les particules de sérum normal, non chauffé, on obtient :

$$F = \left(\frac{n_1^2 - n^2}{n_1^2 + 2\,n^2}\right)^2 = 0{,}000.088.36\,.$$

Pour du sérum chauffé, si nous admettons une *très* forte diminution de l'indice n_1, soit 1,3600, on obtient :

$$F = 0{,}000.019.970.$$

On voit que pour les différences de 1 unité de la 2e décimale de n_1, la variation est de 75 % environ de la valeur de F.

D'autre part, il n'est pas absolument sûr que l'hydratation d'une molécule, dans les conditions que nous avons étudiées, se traduise par une diminution de l'indice. Nous ne savons donc pas dans quel sens la correction devrait jouer. Tout ce que nous savons est que l'indice du sérum total pur tend à augmenter légèrement par suite du chauffage (mesures effectuées à température constante) et que l'augmentation ne porte que sur la quatrième décimale. Et encore l'augmentation est-elle, dans les conditions de nos expériences, de l'ordre de grandeur des fluctuations observées quand le sérum est centrifugé à des moments différents, ou quand il est plus ancien.

Hatschek (*Koll. Zeit.*, **48**, 246, 1929) critique les travaux de Krishnamurti (voir plus haut) et fait observer que l'on ne peut négliger le terme contenant les indices, tout au moins dans le cas de sols d'agar-agar. C'est ce que nous indiquons au début de cette note. Mais d'autre part, il ne nous semble pas possible d'introduire, comme le fait Hatschek, comme valeur de l'indice de la particule n_1, l'indice de la substance sèche. En solution, les particules ou les molécules sont normalement hydratées (à près de 120 % dans le cas des protéines du sérum); c'est l'indice de la particule hydratée qui devrait entrer en ligne de compte. Or, nous ne possédons aucun moyen de le mesurer. Il serait inadmissible d'employer des indices de protéines sèches du sérum tels que ceux obtenus par extrapolation par D. B. Hand (*Journ. Biol. Chem.*, **108**, 703, 1935). Ces indices ne correspondent à aucune réalité biologique, et sont certainement très différents de ceux de la protéine hydratée, en solution. Le rôle de l'eau dans ces grosses molécules est inconnu, mais certainement fondamental. Nous ne constatons que de faibles modifications de l'indice du sérum total après chauffage alors que nous observons d'importantes variations du pouvoir rotatoire. Momentanément, il nous semble donc que les conclusions de Krishnamurti et les nôtres sont les plus logiques et les plus légitimes. D'ailleurs, nous ne parlons que de valeurs d'accroissement relatives. Il serait bien surprenant que les énormes variations dans la valeur de la lumière diffusée (I) soient dues au terme entre parenthèses, alors que l'indice de réfraction du sérum total ne varie pas ou à peine.

duire de grosses erreurs dans les calculs, étant donné les accroissements relativement énormes que nous observons dans la valeur de I. Il est donc possible de calculer, en se basant sur l'équation (2) les accroissements du volume des particules en fonction de la température et du temps. En effet, nous savons que les chiffres lus sur l'appareil nous donnent (après calcul des surcharges) $\log \frac{I_0}{I}$. Au lieu de mesurer I en valeur absolue, nous pouvons soustraire $\log \frac{I_0}{I}$ d'une valeur de $\log I_0$ arbitrairement choisie et constante, ce qui nous donnera une valeur proportionnelle à $\log I$ et très proche de la valeur réelle si la valeur de $\log I_0$ est bien choisie. En extrayant la racine carrée de la valeur trouvée ou simplement en cherchant la valeur de $\frac{\log I}{2}$ dans la table, nous aurons un chiffre qui sera proportionnel au volume des particules. La valeur de $\log \frac{I_0}{I}$ pour le sérum non chauffé est voisine de 5,94, et dans ce cas la quantité de lumière diffusée est extrêmement faible (de l'ordre de 1/1.000.000 de la lumière

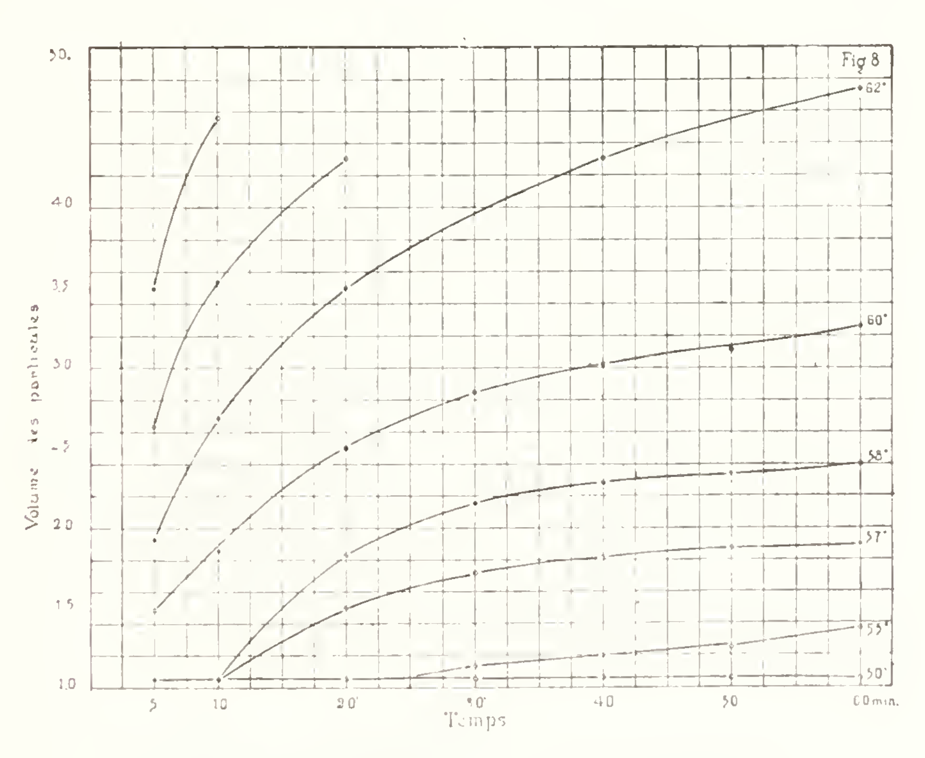


FIG. 31. — Accroissement du volume des particules colloïdales dans le sérum chauffé, en fonction du temps de chauffage.

incidente). Nous pouvons donc prendre 6.000 comme valeur arbitraire de log I_0, ce qui revient à admettre une valeur de 1.000.000 pour I_0, et de l'ordre de l'unité pour I. La figure 34 représente les résultats des calculs, c'est-à-dire que les ordonnées sont proportionnelles au volume des particules. La figure 35

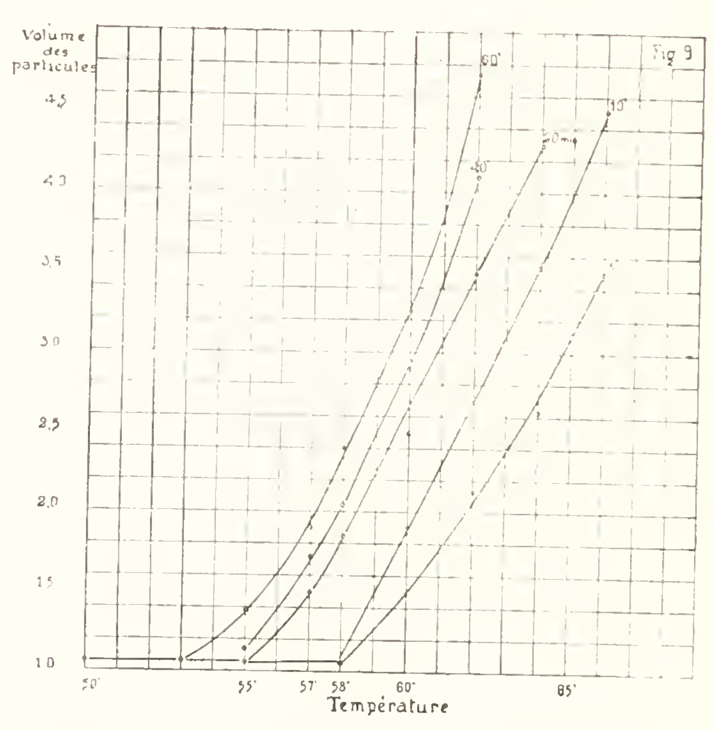


Fig. 35. — Accroissement du volume des particules colloïdales dans le sérum chauffé, en fonction de la température.

représente les mêmes valeurs, mais en fonction de la température. La comparaison entre ces deux figures est intéressante et permet de faire une constatation importante, qu'il était impossible de prévoir *a priori* : il en ressort en effet clairement que l'accroissement du volume des particules est, à partir d'une certaine température, à peu près proportionnel à la température mais non pas au temps pendant lequel la chaleur est maintenue. Nous avions déjà observé le même fait pour l'augmentation du pouvoir rotatoire, ce qui établit bien la relation entre les deux phénomènes, et montre l'action spécifique de la température. La figure 36 permet de comparer les trois phénomènes : accroissement du pouvoir rotatoire, accroissement du volume des particules, accroissement de la viscosité. Il n'y a là, en somme, qu'un seul phénomène qui se manifeste à nous de trois façons

différentes : l'altération structurale (chimique) des molécules, mesurée par le polarimètre, se produit d'abord, naturellement. Elle est suivie par l'accroissement du volume de molécules ou par l'agrégation des molécules sous forme de particules qui dif-

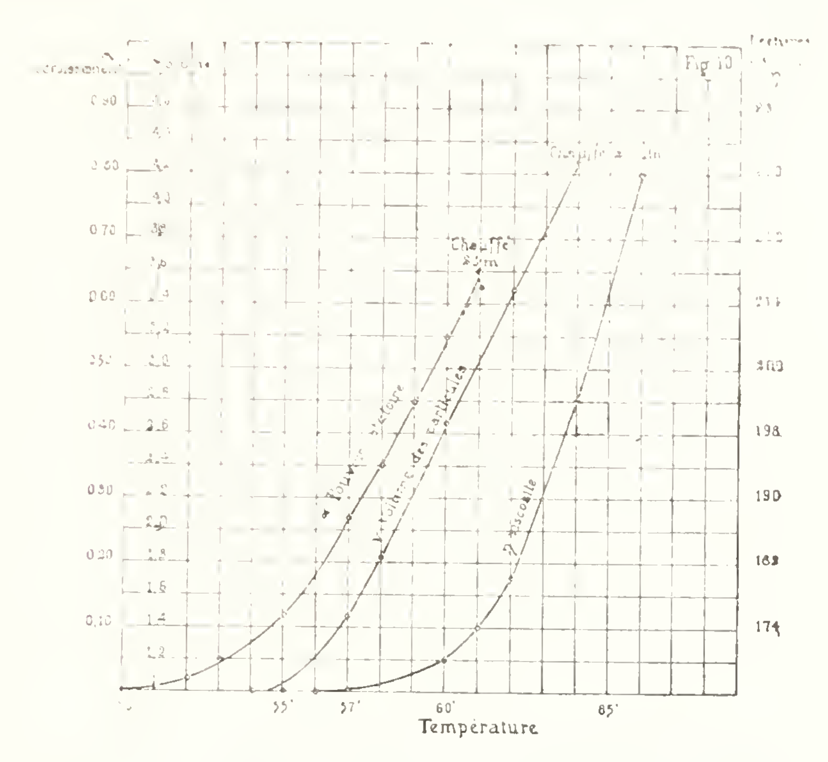


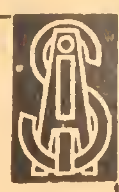
FIG. 36. — Pouvoir rotatoire, volume des particules et viscosité de sérum normal de cheval en fonction de la température.

fusent la lumière, ce qui permet de suivre l'augmentation quantitativement. Lorsque la quantité d'eau fixée est assez importante elle agit sur la viscosité, avec un certain décalage dû à la sensibilité différente de méthodes employées.

On voit que la méthode d'étude de la lumière diffusée permet, en appliquant la formule de Rayleigh, de prolonger les résultats fournis par la mesure de la viscosité, et de constater des accroissements probables de volume de l'ordre de 500 et même, comme nous le verrons au chapitre suivant, de 600 pour cent. Comme les molécules du sérum ne sont pas sphériques et que le raisonnement de Lord Rayleigh ne s'applique en toute rigueur qu'à des particules dont la forme ne s'écarte pas beaucoup de celle de la sphère, ces chiffres n'indiquent qu'un ordre de grandeur.

TABLE DES MATIÈRES

Imp. G. Thone, Liège (Belgique)





ACTUALITÉS SCIENTIFIQUES ET INDUSTRIELLES

PUBLIÉES SOUS LA DIRECTION DE MM.

Marcel PRENANT
Professeur à la Sorbonne
I. BIOLOGIE ÉCOLOGIQUE
II. LEÇONS DE ZOOLOGIE

A. REY
Professeur à la Sorbonne
HISTOIRE DES SCIENCES

Y. ROCARD
Maître de Recherches
THÉORIES MÉCANIQUES
(Hydrodynamique-Acoustique)

R. SOUEGES
Chef de Travaux à la Faculté de Pharmacie
EMBRYOLOGIE
ET MORPHOLOGIE VÉGÉTALES

TAKAGI
Professeur à l'Université Impériale de Tokio
MATHÉMATIQUES GÉNÉRALES

TAMIYA (HIROSHI)
Membre du Tokugawa Biologisches Institut-Tokio
BIOLOGIE (Physiologie cellulaire)

A. TCHITCHIBABINE
Membre de l'Académie des Sciences de l'U. R. S. S.
CHIMIE ORGANIQUE
(Série hétérocyclique)

Georges TEISSIER
Sous-directeur de la Station Biologique de Roscoff
BIOMÉTRIE
ET STATISTIQUE BIOLOGIQUE

G. URBAIN
Membre de l'Institut
Professeur à la Faculté des Sciences de Paris
THÉORIES CHIMIQUES

Pierre URBAIN
Maître de Conférences à l'Institut d'Hydrologie et de Climatologie de Paris
GÉOCHIMIE

L. VERLAINE
Professeur à l'Université de Liège
PSYCHOLOGIE ANIMALE

P. WEISS
Membre de l'Institut
Directeur de l'Institut de Physique de l'Université de Strasbourg
MAGNÉTISME

R. WURMSER
Directeur du Laboratoire de Biophysique de l'Ecole des Hautes Etudes
BIOPHYSIQUE

ACTUALITES SCIENTIFIQUES ET INDUSTRIELLES

Série 1936 (suite).

388. Actes du Congrès International de Philosophie scientifique. I. Philosophie scientifique et empirisme logique . . . . 12 fr.
389. Id. II. Unité de la Science . . . . 12 fr.
390. Id. III. Langage et pseudo-problèmes . . . . 10 fr.
391. Id. IV. Induction et probabilité . . . . 10 fr.
392. Id. V. Logique et expérience . . . . 12 fr.
393. Id. VI. Philosophie des Mathématiques . . . . 12 fr.
394. Id. VII. Logique . . . . 10 fr.
395. Id. VIII. Histoire de la logique et de la Philosophie scientifique . . . . . 12 fr.
396. Erich Heymann. The sol-gel transformation . . . . 15 fr.
397. H. G. Bungenberg de Jong. La coacervation et son importance en biologie, tome I. Généralités et coacervats complexes . . . . 12 fr.
398. Id. La coacervation et son importance en biologie, tome II. Coacervats autocomplexes . . . . 15 fr.
399. R. Freymann. Les ondes hertziennes et la structure moléculaire. I. Méthodes d'étude du spectre hertzien . . . . 10 fr.
400. Id. Les ondes hertziennes et la structure moléculaire. II. Absorption et dispersion dans le spectre hertzien. Applications . . . . 15 fr.

Imp. G. Thone, Liège (Belgique)




ACTUALITÉS SCIENTIFIQUES ET INDUSTRIELLES

402

BIOPHYSIQUE MOLÉCULAIRE

Exposés publiés sous la direction de

P. LECOMTE DU NOÜY

Chef de Service à l'Institut Pasteur

II

LA TEMPÉRATURE CRITIQUE DU SÉRUM

II

PHÉNOMÈNES OPTIQUES ET PHÉNOMÈNES IONIQUES

PAR

P. LECOMTE DU NOÜY



PARIS

HERMANN & CIE, ÉDITEURS

6, Rue de la Sorbonne, 6

—

1936




ACTUALITÉS SCIENTIFIQUES ET INDUSTRIELLES

402

BIOPHYSIQUE MOLÉCULAIRE

Exposés publiés sous la direction de

P. LECOMTE DU NOÜY

Chef de Service à l'Institut Pasteur

II

LA TEMPÉRATURE CRITIQUE DU SÉRUM

II

PHÉNOMÈNES OPTIQUES ET PHÉNOMÈNES IONIQUES

PAR

P. LECOMTE DU NOÜY



PARIS

HERMANN & CIE, ÉDITEURS

6, Rue de la Sorbonne, 6

—

1936

CHAPITRE VI

Facteur de dépolarisation
Mécanisme de la coagulation par la chaleur

Ainsi qu'on a pu s'en rendre compte au cours des précédents chapitres, nous avons acquis un certain nombre de faits nouveaux qui permettent de se faire une idée plus nette des phénomènes qui se passent dans le sérum à partir de 55°. Mais certains points restent encore obscurs.

Par exemple, nous ne savons pas encore s'il ne se produit pas d'agrégation des molécules entre elles, si l'eau n'est pas emprisonnée à l'intérieur des micelles ainsi formées, qui se comporteraient en somme comme de minuscules éponges. En d'autres termes, nous ne savons pas si le sérum, par suite du chauffage ne devient pas colloïdal. Or, l'aspect laiteux du sérum chauffé semble bien militer en faveur de cette hypothèse.

Pour répondre à cette question, il existe une méthode intéressante : c'est la mesure du facteur de dépolarisation. Cette grandeur étant très peu usitée — et n'ayant à notre connaissance jamais été appliquée aux solutions biologiques — nous allons en dire quelques mots qui feront comprendre pourquoi nous l'avons choisie.

Nous avons montré dans le chapitre précédent que l'étude de la lumière diffusée à angle droit permettait de suivre l'accroissement du volume des molécules ou des particules dans le sérum en fonction de la température, et que cette méthode était beaucoup plus sensible que celle qui consiste à mesurer la densité optique du sérum. Or, la lumière ainsi diffusée est, on le sait, polarisée. La théorie de Lord Rayleigh rend compte de ce résultat, et pré-

voit que, pour les solutions colloïdales dont les particules sont petites par rapport à la longueur d'onde de la lumière, optiquement isotropiques et distribuées au hasard, la lumière doit être complètement polarisée à 90°. Cette théorie cesse de s'appliquer quand les particules sont grosses et irrégulières. Mie [1], en considérant des particules sphériques (surtout des suspensions colloïdales d'or), est arrivé à certaines conclusions que l'on peut résumer ainsi : Tant que les particules sont petites (de l'ordre de 100 mμ, soit 1.000 Ångströms) la distribution de l'énergie suit la formule de Lord Rayleigh, et le faisceau diffusé à angle droit est complètement polarisé, rectilinéairement (jamais elliptiquement). Lorsque ce faisceau n'est pas complètement polarisé, c'est l'indication de la présence de plus grosses particules dans la solution. Quand les particules atteignent un diamètre de 130 mμ, la polarisation n'est plus que de 90 %. Dans ce cas, on constate un déplacement de la direction du maximum de polarisation. Finalement, Mie explique la couleur des sols d'or par les dimensions des grains.

Mais on a démontré que ces explications étaient insuffisantes et qu'il y avait lieu d'introduire un élément nouveau dans les calculs, à savoir la forme de la particule. Gans [2] s'est efforcé de résoudre les difficultés mathématiquement, et, en ne considérant que des particules dont les dimensions sont petites par rapport à la longueur d'onde de la lumière, il arrive aux conclusions suivantes : 1° l'aspect de la courbe d'absorption dépend largement de la forme des particules ; 2° la lumière diffusée latéralement par une solution colloïdale est complètement polarisée rectilinéairement quand les particules sont sphériques ; elle est partiellement dépolarisée quand leur forme est différente, et la quantité de lumière dépolarisée est d'autant plus grande que la forme des particules s'écarte davantage de la sphère. La mesure de la quantité de lumière dépolarisée — ou de son rapport à la quantité de lumière polarisée (facteur de dépolarisation ρ) — permettrait donc d'atteindre un des éléments de la forme des particules. Enfin la quantité de lumière dépolarisée dépend aussi de la dimension

(1) *Ann. der Physik*, **25**, p. 377, 1908.

(2) *Ann. der Physik*, **37**, p. 881, 1912 ; **47**, p. 270, 1915 ; **62**, p. 331, 1920 ; *Zeitschr. Physik*, **17**, p. 353, 1923 ; **30**, p. 231, 1924.

des particules. (Voir à la fin du chapitre la note sur les définitions et les symboles.)

Se basant sur les travaux précédents, Krishnamurti (1) a étudié des solutions d'agar, et en conclut à de légers changements dans la forme des granules, suivant la température, entre les états de gel et de sol. Malheureusement, le fait que le volume des particules joue également un rôle dans la dépolarisation empêche de se faire une idée quantitative du phénomène. Il faut donc se défier des conclusions hâtives.

Le rôle de la forme des particules, malgré les travaux précités, est encore mal connu. On ne peut affirmer que, dans tous les cas, l'asymétrie géométrique, ou, si l'on veut, l'accroissement d'un diamètre privilégié par rapport aux autres, influe systématiquement sur le facteur de dépolarisation. Cabannes (2), a montré que, dans la série des hydrocarbures à chaîne ouverte, sans ramifications, lorsqu'on passe du méthane à ses homologues supérieurs, la dépolarisation reste faible et à peu près constante. Malgré l'allongement de la chaîne, du méthane à l'octane, l'anisotropie (exprimée par le facteur de dépolarisation) varie peu (méthane, $100\ \rho = 1,5$; octane, $100\ \rho = 1,8$). C'est donc que l'anisotropie n'est pas directement liée à la forme géométrique de la molécule, tout au moins dans ce cas. De plus, les travaux de Gans et de Mie ont porté principalement sur les sols métalliques à particules opaques. On ne peut généraliser ces résultats aux molécules telles que les protéines qui jouissent vis-à-vis de la lumière de propriétés totalement différentes.

De toutes façons, si l'on ne peut à coup sûr se baser sur la seule détermination de ρ pour en tirer des informations sur la géométrie de la molécule, tout au moins peut-on en tirer des renseignements directs sur l'anisotropie moléculaires. Et cela sans qu'on ait à orienter les molécules par un champ électrique ou magnétique auxiliaire, comme le fait remarquer Cabannes (3).

Le fait capital qu'il importe de rappeler au début de ce chapitre est que les particules ultra-microscopiques sont généralement sphériques et isotropes, et qu'elles diminuent donc la valeur de ρ. *Un liquide qui diffuse une lumière à peu près complètement*

(1) *Proceed. Roy. Soc.*, ser. A, **122**, p. 76, 1929.
(2) *La diffusion moléculaire de la lumière*, Paris, 1929, p. 135.
(3) *Loc. cit.*, p. 107.

polarisée est une solution colloïdale et non un liquide homogène [1].

Or, nous avons déjà exprimé quantitativement l'accroissement du volume des particules dans le sérum, en fonction de la température et du temps de chauffage. Nous avons donc pensé qu'il serait intéressant d'étudier le facteur de dépolarisation dans l'espoir d'en tirer une information précise en ce qui concerne la façon dont se produit l'augmentation de volume des particules de sérum, par hydratation d'abord, et, suivant l'opinion généralement admise, par agrégation avec d'autres molécules ensuite. Les molécules d'eau s'adsorbent-elles indifféremment sur toutes les faces de la « molécule de sérum », simultanément, de sorte que la symétrie de la molécule reste invariable tandis qu'elle s'accroît, ou bien au contraire les molécules d'eau viennent-elles se fixer de préférence à un ou deux points de la molécule changeant ainsi sa forme en accroissant un de ses axes par rapport aux autres? Et, en général, pouvons-nous préciser notre connaissance encore vague du processus d'adsorption et nous faire une idée plus claire du phénomène de coagulation du sérum par la chaleur?

C'est dans le but d'essayer de jeter un peu de lumière sur ces faits importants que nous avons entrepris les expériences dont la description va suivre.

Dispositif expérimental [2]

Nous avons eu recours au photomètre de Vernes, Bricq et Yvon, que nous avions déjà employé dans nos expériences précédentes, mais nous avons dû y introduire quelques modifications afin de l'adapter aux problèmes nouveaux que nous nous proposions d'étudier [3] (fig. 37).

Tout d'abord, la luminosité de l'appareil fut augmentée de huit fois. De plus, deux nicols orientés à 90° l'un de l'autre furent disposés sur le trajet du rayon diffusé, et montés sur un chariot

[1] Cabannes, *loc. cit.*, p. 184.

[2] Lecomte du Noüy, *Ann. Inst. Pasteur*, **45**, p. 251, 1930.

[3] L'auteur exprime ses remerciements aux constructeurs, MM. Jobin et Yvon et à M. Tardy, ingénieurs, tous trois anciens élèves de l'École Polytechnique, pour leur précieuse collaboration dans l'étude et la réalisation de ces modifications.

de façon à pouvoir être rapidement mis en service afin d'analyser la lumière. On décida d'employer deux nicols fixés dans une position invariable, plutôt qu'un nicol pouvant subir une rotation de 90°, pour des raisons de construction et de manœuvre. De cette façon, le rapport du flux dépolarisé au flux polarisé verticalement pouvait être déterminé en mesurant les valeurs de log $\frac{I_0}{I}$ après interposition des deux nicols successivement, sans qu'il y eût à faire intervenir l'absorption par les nicols, cette absorption étant la même dans les deux cas. Il fallut enfin interposer un écran diffusant blanc sur parcours du trajet de I_0 de façon à comparer entre elles deux sources de même nature. La figure 37 montre le dispositif employé. On voit que les deux objectifs D_1 et O_3 prennent comme sources respectives la solution diffusante X et l'écran diffusant P et que l'image se forme sur le diaphragme K.

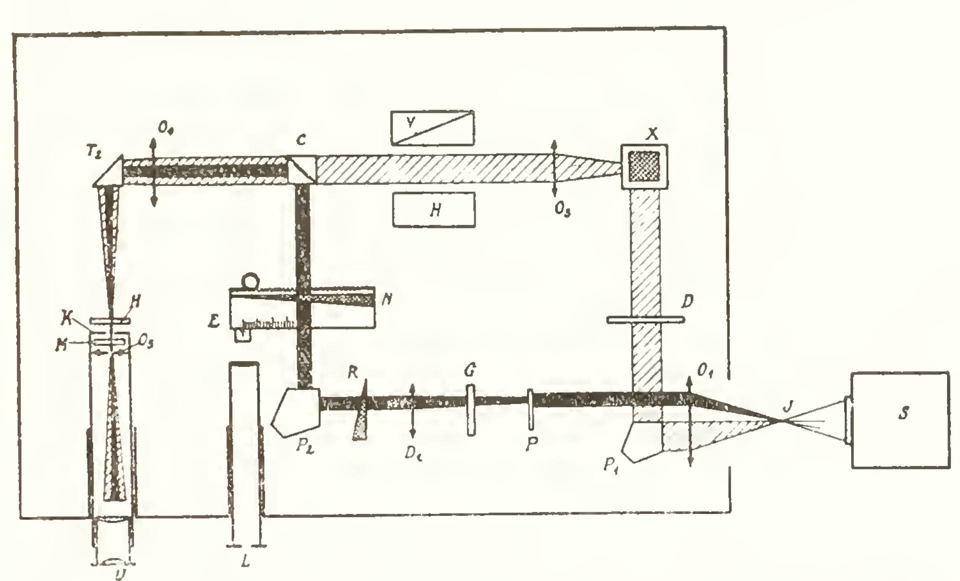


Fig. 37. — Schéma du photomètre V.B.Y., montrant les principales modifications introduites : 1° l'addition d'un écran diffusant blanc P au foyer d'un objectif D ; 2° l'addition de deux nicols V et H sur le trajet du flux diffusé par la solution X. Ces nicols, montés sur un chariot à glissière, peuvent être introduits successivement dans le faisceau lumineux.

La source employée fut, en général, une lampe à filament de tungstène de projection de 450 watts [1] ; cette intensité était nécessaire pour pouvoir effectuer des mesures de lumière dépolarisée, extrêmement faible, dans le cas du sérum normal. Nous avons

[1] Gracieusement fournie par la Société des Lampes Yvel.

employé également dans certains cas une lampe à ruban de tungstène, consommant 18 ampères sous 6 volts.

Etant donné la très petite intensité de la lumière dépolarisée, qui représente, pour le sérum, jusqu'à 55°, environ 1 % de la lumière diffusée, laquelle n'est elle-même que de l'ordre de 1/800.000 de la lumière incidente, nous avons été amenés à utiliser un écran bleu au lieu de l'écran rouge, lequel est moins lumineux. On sait, en effet, que l'intensité de la lumière diffusée est proportionnelle à l'inverse de la quatrième puissance de la longueur d'onde. Les chiffres suivants (1) montrent l'importance que prennent les radiations de grande fréquence dans le rayonnement diffusé :

λ (Angströms)	2.000	4.000	6.000	8.000	10.000
Nombres proportionnels à λ^{-4}	635	39	7,7	2,4	1

L'écran rouge correspondant à une valeur moyenne de $\lambda = 6.900$ Å (Wratten), tandis que l'écran bleu n° 45-H (Wratten) correspond à $\lambda = 4.800$ Å, on se rend aisément compte du gain réalisé. Sauf indication contraire, les chiffres que nous publions ont été obtenus avec l'écran bleu H.

La formule employée pour les lectures était :

$$(n + g - d) \times e = \log \frac{I_0}{I}$$

où : n = lectures à l'échelle ;

g = valeur des surcharges sur le flux I_1 (gauche) ;

d = valeur des surcharges sur le flux I_2 (droite) ;

e = correction due à l'écran monochromatique.

La valeur de e pour l'écran α est 1 ; pour l'écran bleu (H), 1,27. Pour l'écran rouge F, 1,15 (λ moyen $= 0,675\ \mu$).

Nous avons vérifié que la température du liquide, au moment de la lecture, n'influait pas sensiblement sur les mesures. Les mêmes chiffres furent obtenus à 10°, à 20° et à 40°.

Détermination du facteur de dépolarisation. — 1° *Définition.* Soit I_V l'intensité d'un faisceau diffusé dans une certaine direc-

(1) Extraits de J. Cabannes, *La diffusion moléculaire de la lumière*, déjà cité.

tion après avoir traversé un nicol qui laisse passer sans les affaiblir les vibrations verticales.

Soit I_H l'intensité de ce même faisceau après traversée d'un nicol qui laisse passer sans les affaiblir les vibrations horizontales.

Le rapport $\rho = \frac{I_H}{I_V}$ s'appelle facteur de dépolarisation.

Si le faisceau diffusé est complètement polarisé rectilinéairement avec vibrations verticales, $I_H = 0$, donc $\rho = 0$. Si le faisceau diffusé est complètement dépolarisé, c'est-à-dire formé de lumière naturelle $I_H = I_V$ donc $\rho = 1$. En définitive, ρ est toujours compris entre 0 et 1 et sa valeur est d'autant plus élevée que le faisceau diffusé contient moins de lumière polarisée verticalement. (Par verticalement, nous entendons dans un plan perpendiculaire au plan contenant le faisceau incident et le faisceau diffusé.)

2° *Mesure avec le photomètre.* — Le nicol qui éteint les vibrations verticales est mis en service sur le parcours I_2. L'égalité photométrique est réalisée. Soit Δ la lecture correspondante, compte tenu des surcharges introduites. Le nicol qui éteint les vibrations horizontales est ensuite mis en service. L'égalité photométrique est à nouveau réalisée : soit δ la lecture correspondante. Le facteur de dépolarisation est donné par la formule simple :

$$\log \rho = -(\Delta - \delta) .$$

Résultats expérimentaux. — Le tableau XIX exprime les résultats expérimentaux d'une série d'expériences, à différentes températures, pour des temps de chauffage différents. Les mesures étaient effectuées après refroidissement à 20° environ.

On se rend compte, d'après ce tableau, de l'avantage qu'il y a à représenter les résultats expérimentaux au moyen de courbes, non seulement à cause des difficultés typographiques, mais surtout à cause de la clarté beaucoup plus grande de ces dernières. A moins de nécessité, nous emploierons donc surtout la méthode graphique pour exprimer nos résultats.

On constate dans ce tableau, que les lectures, pour le sérum normal, sont parfois un peu plus basses que celles obtenues dans le même sérum après chauffage à 54° ou 56°. Les lectures exprimant le rapport $\log \frac{I_0}{I}$ cela signifie que la quantité de lumière

Tableau XIX. — *Expérience 5. Sérum normal de cheval*

Filtre bleu II

Température	Temps minutes	Log $\frac{I_0}{I}$ Lumière normale Lect.	Corr.	Lumière polarisée verticalement Lect.	Corr.	Lumière dépolarisée Lect.	Corr.	Facteur de dépolarisation ρ
Non chauffé . .		1,87	2,38	2,02	2,56	2,92	4,23	0,0214
	5	1,88	2,39	2,02	2,56	2,00	4,33	0,0170
	10	1,88	2,39	2,02	2,56	2,00	4,33	0,0170
55°	20	1,88	2,39	2,02	2,56	2,00	4,33	0,0120
	40	1,83	2,32	2,00	2,54	2,04	4,38	0,0162
	60	1,70	2,25	1,92	2,44	1,80	4,08	0,0236
	5	1,88	2,39	2,05	2,60	1,95	4,26	0,0219
	10	1,87	2,38	2,04	2,59	1,95	4,26	0,0214
56°	20	1,80	2,29	1,98	2,51	1,95	4,26	0,0178
	40	1,72	2,18	1,87	2,37	1,75	4,01	0,0230
	60	1,69	2,15	1,83	2,32	1,75	4,01	0,0204
	5	1,88	2,39	2,02	2,56	2,00	4,33	0,0170
	10	1,82	2,31	1,98	2,51	1,95	4,26	0,0178
57°	20	1,73	2,20	1,88	2,39	1,84	4,14	0,0178
	40	1,60	2,03	1,78	2,26	1,67	3,91	0,0224
	60	1,60	2,03	1,77	2,25	1,68	3,92	0,0214
	5	1,88	2,39	2,01	2,59	2,02	4,35	0,0174
	10	1,81	2,30	1,95	2,48	1,90	4,20	0,0191
58°	20	1,65	2,10	1,81	2,30	1,72	3,98	0,0209
	40	1,47	1,87	1,64	2,08	1,45	3,63	0,0295
	60	1,46	1,85	1,61	2,04	1,43	3,61	0,0269
Normal. . . .		1,68	2,13	1,84	2,34	1,80	4,08	0,0182
	5	1,63	2,07	1,79	2,27	1,78	4,05	0,0166
	10	1,58	2,01	1,73	2,20	1,64	3,88	0,0209
59° (sér. diff.) 18/2	20	1,46	1,85	1,62	2,06	1,34	3,50	0,0355
	40	1,31	1,66	1,47	1,87	1,12	3,21	0,0458
	60	1,23	1,56	1,40	1,78	1,90	2,93	0,0708
	5	1,63	2,07	1,80	2,28	1,70	3,95	0,0214
	10	1,51	1,92	1,67	2,12	1,48	3,67	0,0282
60°	20	1,33	1,69	1,49	1,89	1,19	3,31	0,0381
	40	1,21	1,54	1,36	1,73	2,28	2,93	0,0677
	60	1,18	1,50	1,34	1,70	2,16	2,74	0,0913
	5	1,44	1,83	1,62	2,06	2,86	3,63	0,0270
62°	10	1,32	1,67	1,50	1,90	2,53	3,21	0,0490
	20	1,20	1,52	1,37	1,74	2,30	2,92	0,0661
	40	0,98	1,24	1,18	1,50	1,86	2,36	0,1390
	5	1,36	1,73	1,51	1,92	2,58	3,28	0,0437
64°	10	1,15	1,46	1,32	1,68	2,22	2,82	0,0725
	20	0,96	1,22	1,17	1,48	1,79	2,27	0,1290
	40	0,94	1,19	1,17	1,48	1,62	2,06	0,2640
Normal. . . .		1,74	2,21	1,89	2,40	1,85	4,15	0,0178
66°	5	1,21	1,54	1,39	1,76	2,24	2,84	0,0832
Demi-coagulé .	10	1,02	1,29	1,24	1,58	1,82	2,31	0 1860
Coagulé . . .	20	0,91	1,16	1,15	1,46	1,54	1,96	0,2510
68°	5	0,98	1,24	1,18	1,50	1,89	2,40	0,1000
Coagulé . . .	10	0,90	1,14	1,15	1,46	1,46	1,85	0,4670
Coagulé . . .	20	0,89	1,13	1,18	1,50	1,40	1,78	0,5250

diffusée est légèrement plus grande qu'après chauffage. La différence est de l'ordre de grandeur des erreurs d'expériences, en général, mais parfois elle correspond à un phénomène net. Néanmoins, à partir de 57°, pour des chauffages de dix minutes, la

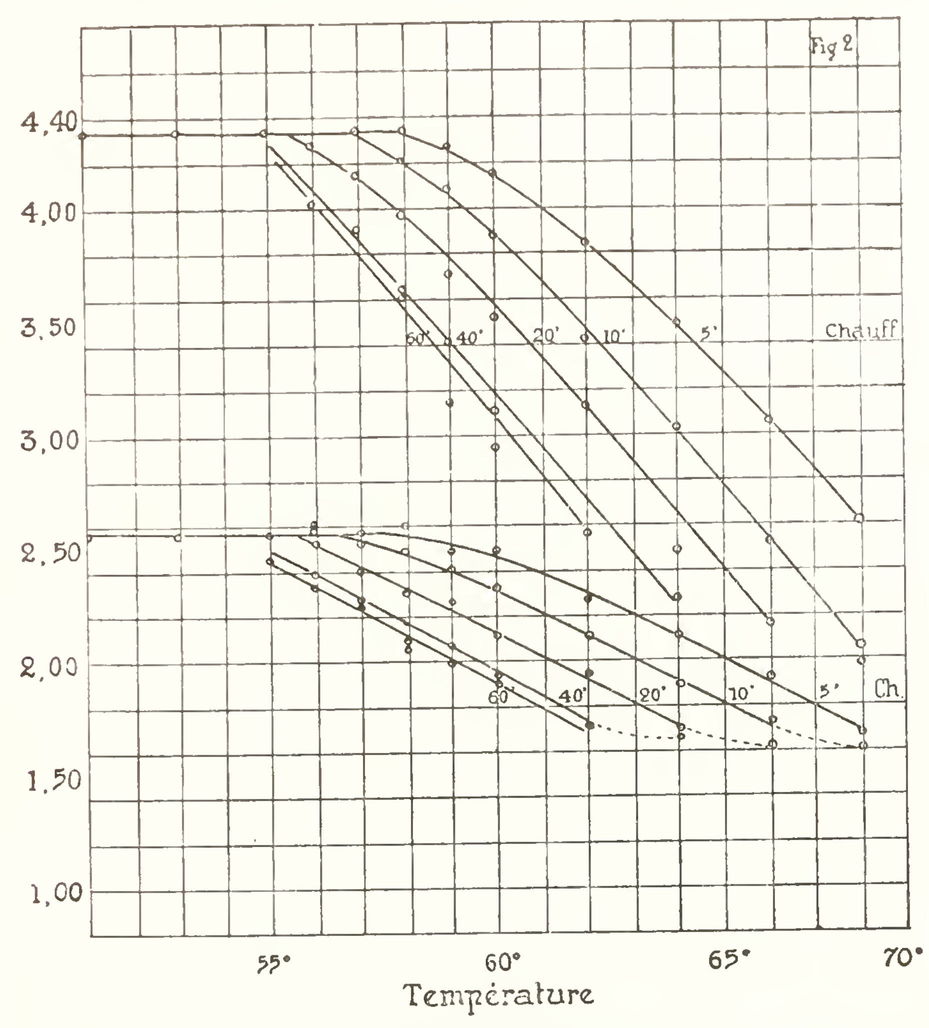


Fig. 38. — Courbes représentant les lectures (ordonnées) corrigées pour les surcharges et l'écran H (Wratten). Lumière diffusée dépolarisée et polarisée verticalement (courbes du bas) pour différents temps de chauffage, de cinq à soixante minutes, en fonction de la température. (Mesures faites à 20°.)

diminution, déjà signalée dans le précédent chapitre, commence et se poursuit régulièrement. Nous avons déjà fait remarquer que pour des chauffages prolongés — quarante et soixante minutes — le phénomène d'accroissement du volume des molécules, bien qu'identique en principe, ne s'exprimait plus par une droite. *Un long chauffage introduit donc un phénomène supplémentaire*, une lyse ou un accolement des molécules. D'autre part, les courbes étant sensiblement parallèles, il n'y a pas intérêt, momentané-

ment, à chauffer plus de dix minutes ; c'est pourquoi dans les protocoles qui vont suivre nous nous sommes bornés à mentionner les expériences effectuées au moyen de sérum chauffé pendant dix minutes.

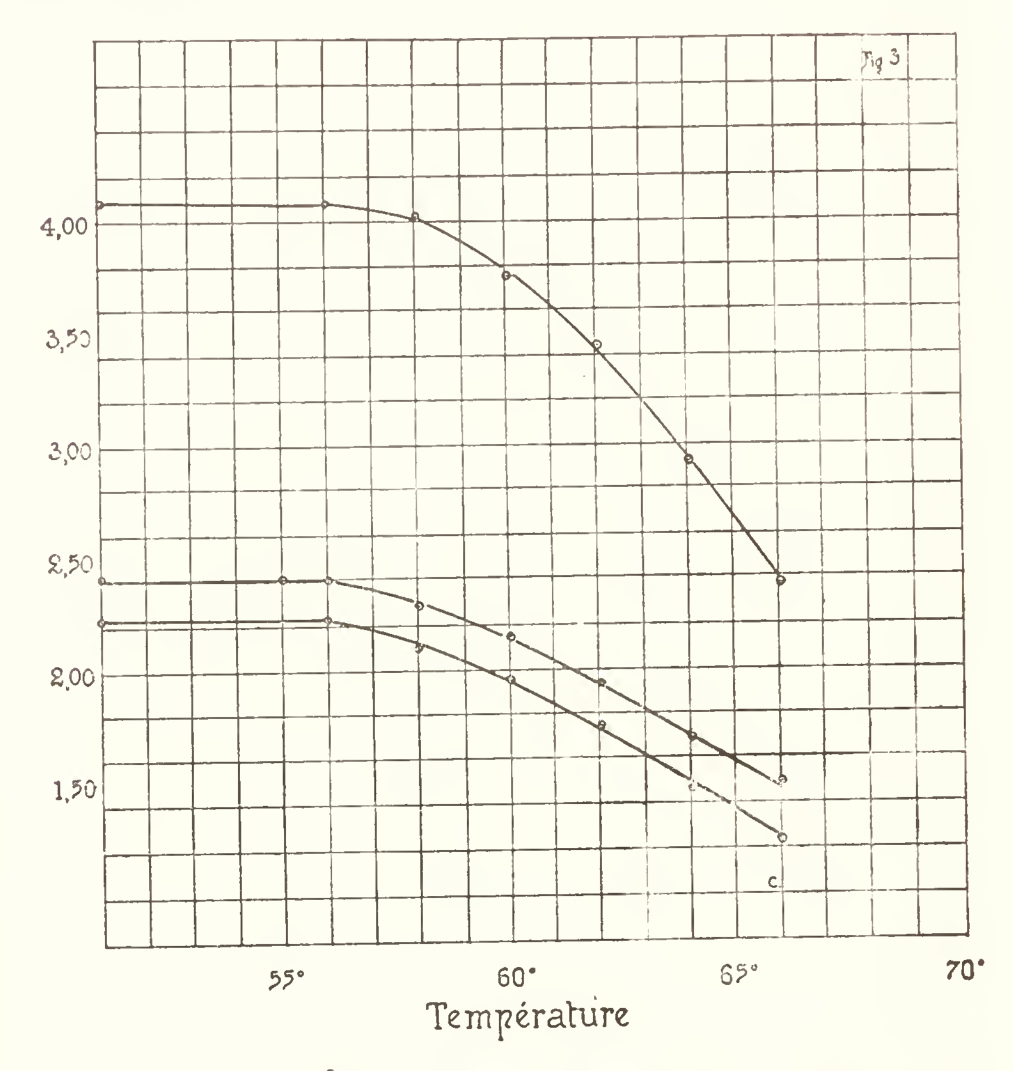


Fig. 39. — Log $\frac{I_0}{I}$. Lectures corrigées, lumière dépolarisée (courbe du haut) polarisée verticalement (courbe intermédiaire) et naturelle (sans interposition de nicol) (courbe inférieure). Chauffage de dix minutes.

On constate d'assez grandes variations dans la valeur de ρ aux températures inférieures à 58°. Elles sont dues à la grande difficulté rencontrée dans la mesure du rapport log $\frac{I_0}{I}$ quand le nicol arrêtant les vibrations verticales est mis en service. La quantité de lumière qui passe est alors extrêmement faible (de l'ordre de 1/50.000.000 de la lumière incidente) et l'égalité des plages, très obscures, ne peut se faire avec précision. Les lectures expri-

mées représentent des valeurs moyennes entre deux extrêmes. Elles ne deviennent faciles que quand le sérum a subi un chauffage à 58° environ. La figure 38 montre l'allure du phénomène pour différents temps de chauffage (lumière polarisée verticalement :

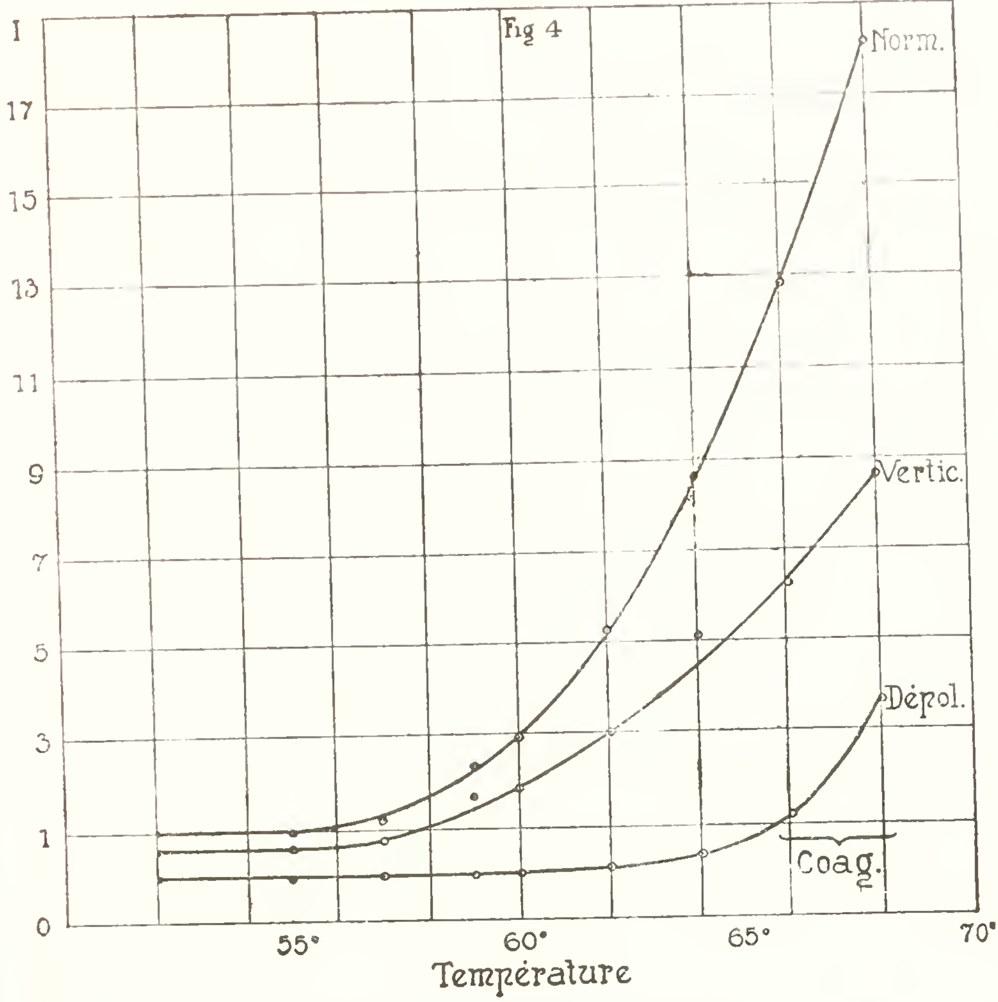


Fig. 40. — Lumière diffusée D calculée d'après n_0 — n = D où n_0 est la lecture obtenue pour le sérum normal et les lectures successives en fonction de la température.

courbes inférieures, et lumière dépolarisée, courbes supérieures). La figure 39 montre les résultats pour un seul temps de chauffage (dix minutes). Les ordonnées représentent $\log \frac{I_0}{I}$. Pour obtenir les valeurs absolues dans les conditions de nos expériences, il suffit d'établir la valeur du rapport $\log \frac{I}{I_0}$ pour un diffusant déterminé, avec des surcharges connues, et d'ajouter algébriquement la valeur trouvée à la lecture n. Par exemple, pour la lumière

normale, la valeur absolue de $\log \frac{I}{I_0}$ pour un sérum normal (expérience n° 9) était de $-5{,}76$; $\frac{I}{I_0} = 1/575.000$. Pour ce même sérum, la valeur absolue de $\frac{I}{I_0}$ en lumière *dépolarisée* était de

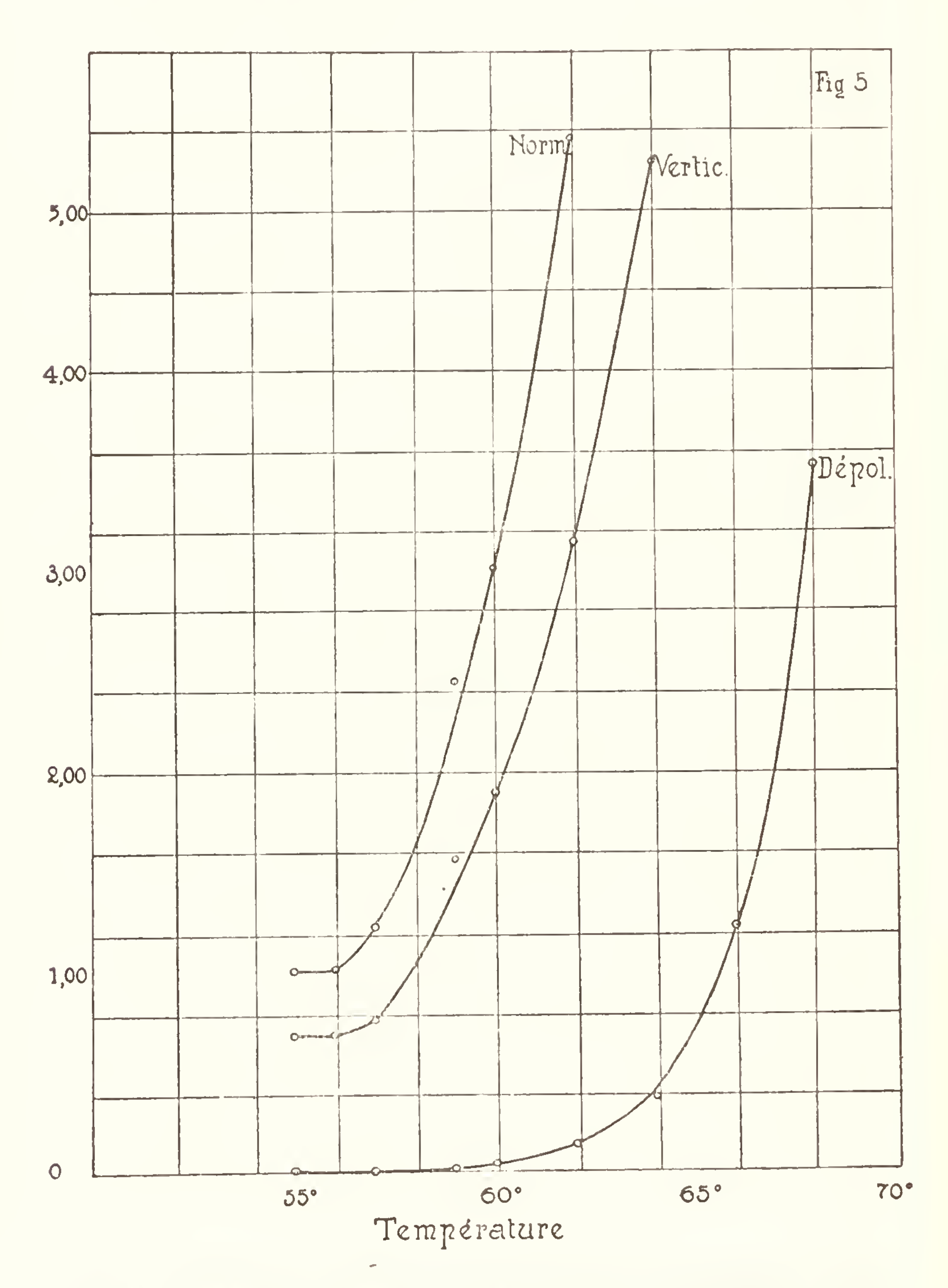


FIG. 41. — Mêmes courbes que celle de la figure précédente (n° 40) à une autre échelle, mettant en évidence le départ brusque des courbes.

1/36.000.000. L'examen des figures permet de se rendre compte de la grande rapidité d'accroissement de ce dernier rapport.

La figure 40 représente l'accroissement de la lumière diffusée (normale, polarisée verticalement et dépolarisée) en fonction

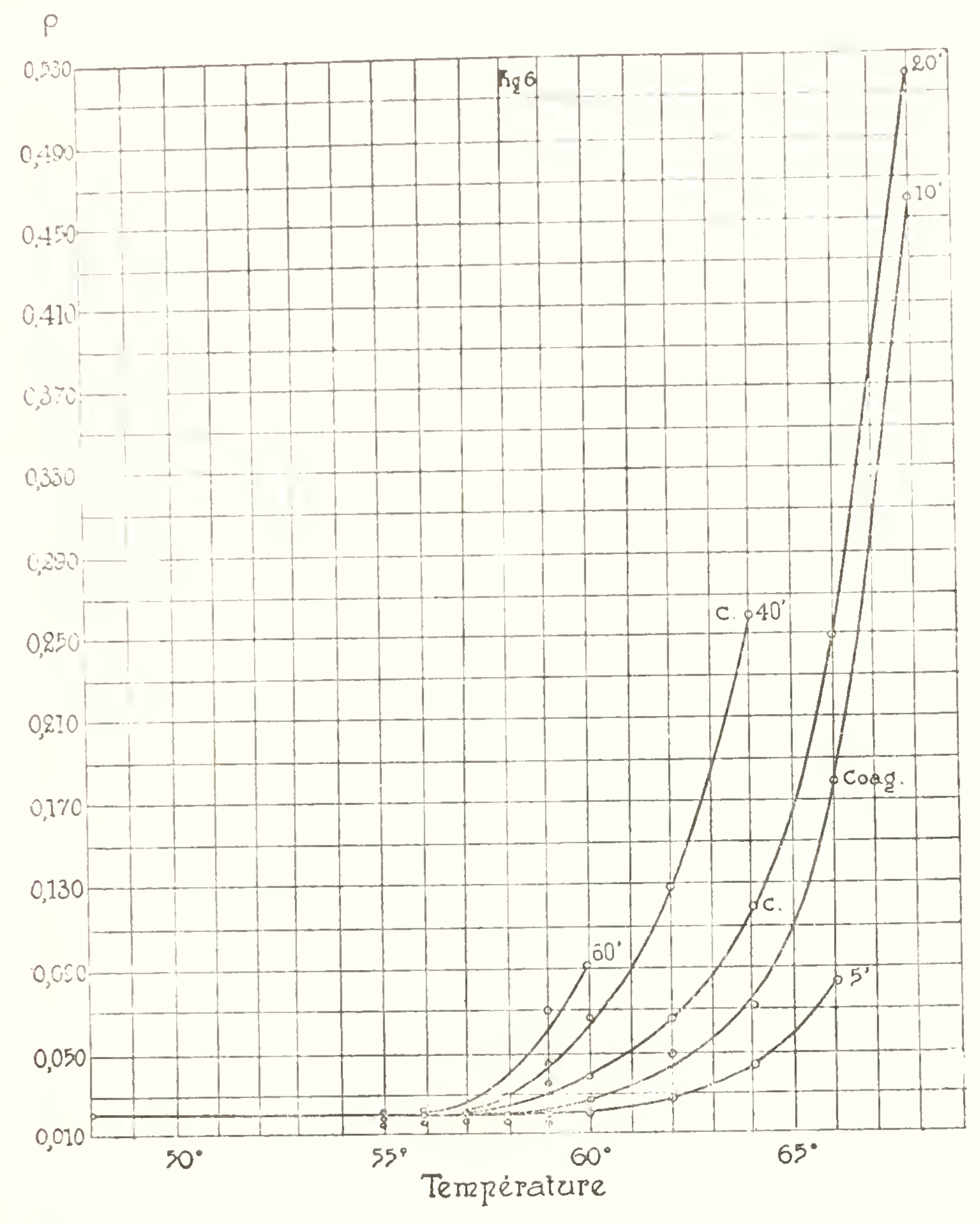


Fig. 42. — Facteur de dépolarisation. Courbes représentant l'accroissement du facteur de dépolarisation ρ en fonction de la température pour des durées de chauffage différentes. La lettre C indique la coagulation.

de la température. La figure 41 représente les mêmes valeurs mais à une échelle différente qui met en évidence la soudaineté de l'accroissement après 56°.

Les figures 42, 43, 44 expriment l'accroissement du facteur de dépolarisation dans différentes expériences. La figure 42 pour

différents temps de chauffage, les autres pour un chauffage constant de dix minutes. On voit quelles grandes valeurs ρ peut attein-

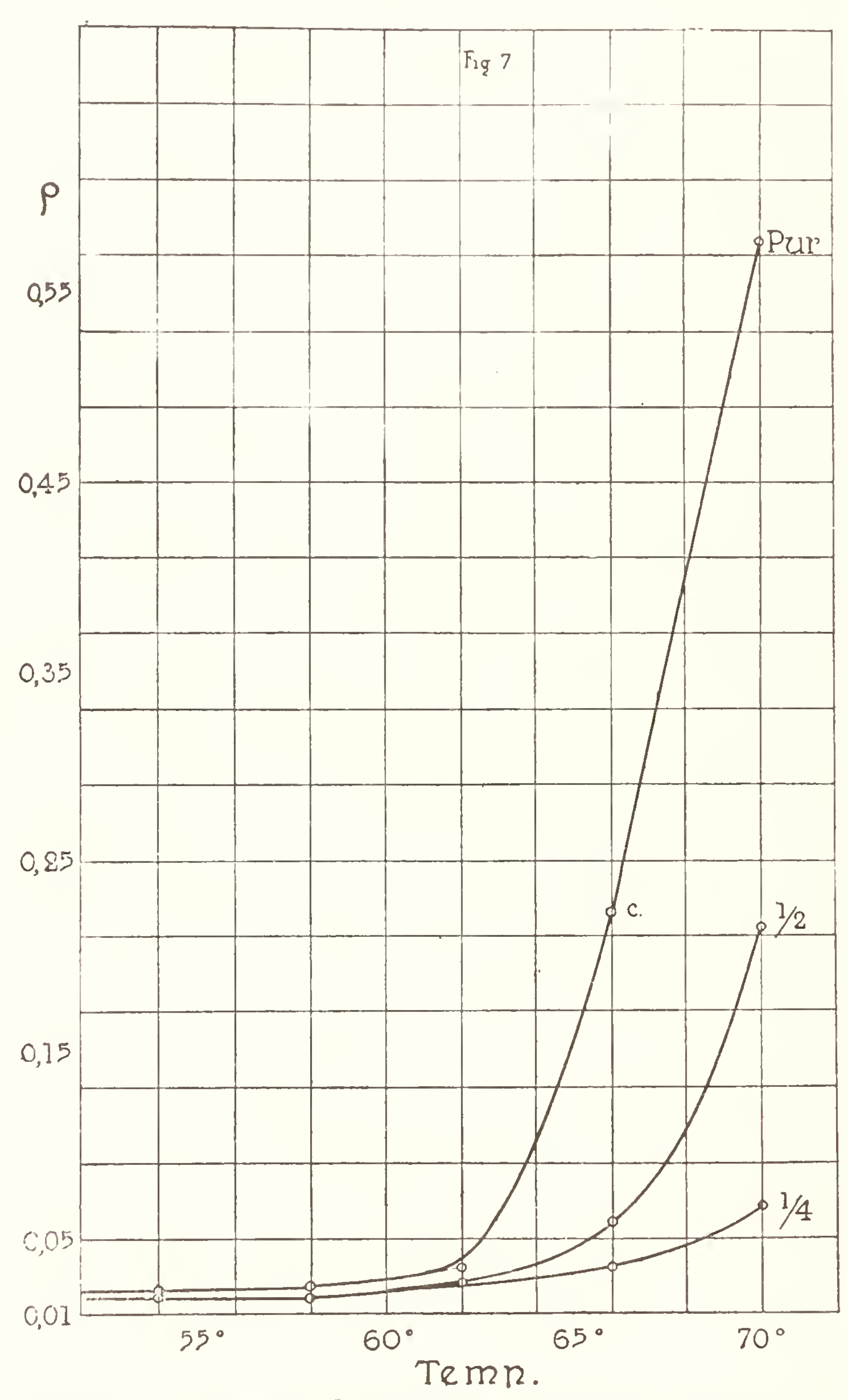


Fig. 43. — Accroissement du facteur de dépolarisation ρ en fonction de la température, pour du sérum pur, et dilué de 50 p. 100 et de 75 p. 100 de solution physiologique (chauffage : dix minutes).

dre dans le sérum dilué de moitié : 0,81. Ce qui indique que 20 % seulement de la lumière diffusée est polarisée : les propriétés opti-

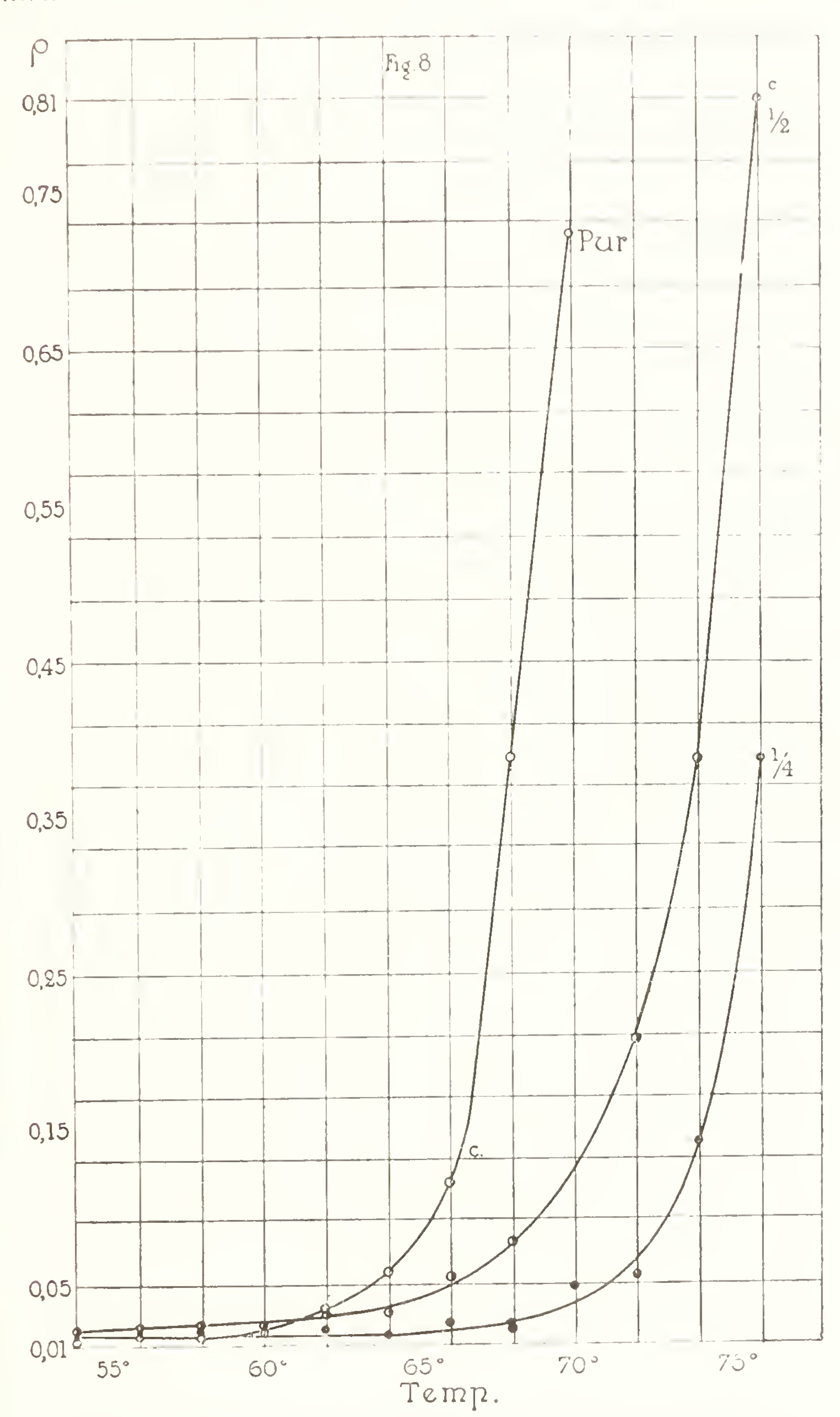


FIG. 44. — Facteur de dépolarisation en fonction de la température (sérum pur et dilué). Chauffage dix minutes.

ques de la molécule sont complètement bouleversées. La figure 45 montre que les accroissements paraissent suivre la loi logarithmi-

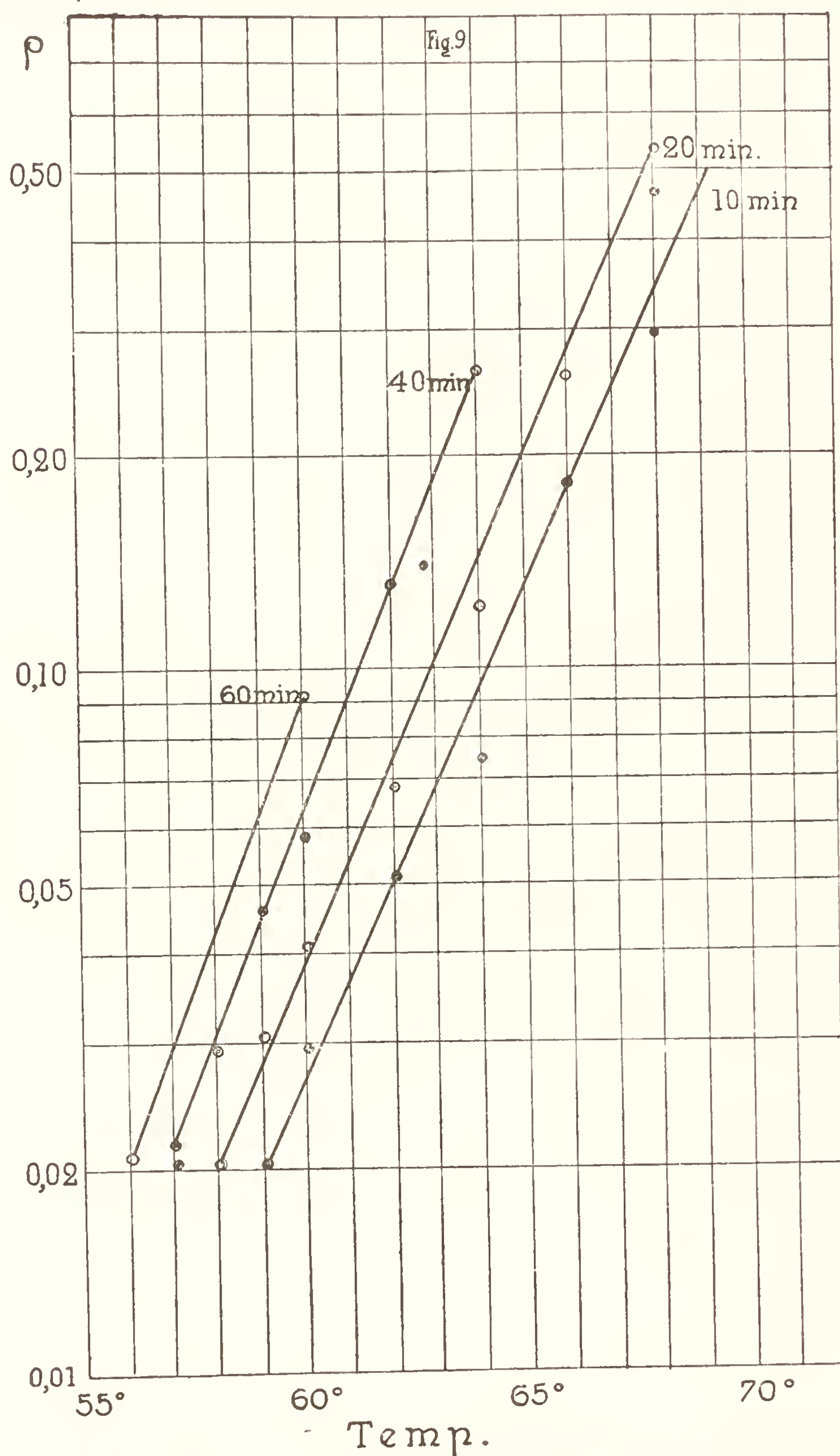


FIG. 45. — Accroissement du facteur de dépolarisation en fonction de la température (dix minutes de chauffage) sur papier semi-logarithmique.

que exprimée par une équation de la forme : $\rho = e^{kT}$, T étant la température.

Les tableaux XX et XXI représentent les protocoles d'expériences faites à temps de chauffage constant sur du sérum pur et dilué à 1/2 et 1/4 avec de la solution de NaCl à 0,90 %. L'avant-dernière colonne exprime l'accroissement probable de volume des molécules calculé d'après la formule de Rayleigh. Les chiffres sont obtenus en soustrayant les lectures corrigées (lumière normale) de la lecture initiale trouvée dans le sérum normal non chauffé, et en divisant la différence par 2, ce qui permet de trouver directement dans les tables de logarithmes la valeur de l'accroissement de volume.

TABLEAU XX. — *Expérience 13. Sérum normal de cheval, pur*

Chauffage constant : dix minutes

Température	Log $\frac{I_0}{I}$						Accroissement du volume d'une molécule	Facteur de dépolarisation ρ
	Lumière normale		Lumière polarisée verticalement		Lumière dépolarisée			
	Lect.	Corr.	Lect.	Corr.	Lect.	Corr.		
Non chauffé.	2,10	2,67	2,26	2,87	2,20	4,58		0,0195
51°	2,12	2,69	2,26	2,87	2,20	4,58		0,0195
58°	1,97	2,50	2,14	2,72	2,15	4,52	1,24	0,0160
62°	1,53	1,94	1,69	2,14	1,43	3,61	2,37	0,0339
66° C	1,19	1,51	1,12	1,80	1,93	2,45	3,90	0,2210
70° C	1,05	1,33	1,36	1,73	1,55	1,97	1,79	0,5760
Même sérum dilué 1/2 :								
Non chauffé	2,14	2,72	2,30	2,92	2,27	4,67		0,0178
54°	2,17	2,76	2,32	2,94	2,20	4,59		0,0221
58°	2,07	2,63	2,22	2,82	2,10	4,16	1,11	0,0230
62°	1,85	2,35	2,00	2,51	1,85	4,13	1,53	0,0250
66°	1,10	1,78	1,57	2,00	2,55	3,21	2,95	0,0576
70°	1,06	1,35	1,30	1,65	1,81	2,32	4,85	0,2110
Même sérum dilué 1/4 :								
Non chauffé.	2,24	2,81	2,38	3,02	2,30	4,70		0,0209
51°	2,13	2,79	2,22	2,82	2,10	4,15		0,0235
58°	2,17	2,76	2,33	2,96	2,30	4,70	1,09	0,0182
62°	2,00	2,51	2,14	2,72	2,00	1,33	1,11	0,0[illegible]16
66°	1,66	2,11	1,80	2,38	3,05	3,88	2,31	0,0317
70°	1,30	1,65	1,17	1,87	2,10	3,05	3,91	0,0661

Tableau XXI. — *Expérience 14. Sérum normal de cheval n° 2, pur et dilué, chauffé dix minutes*

Température	Log $\frac{I_0}{I}$						Accroissement du volume d'une molécule	Facteur de dépolarisation ρ
	Lumière normale		Lumière polarisée verticalement		Lumière dépolarisée			
	Lect.	Corr.	Lect.	Corr.	Lect.	Corr.		
Non chauffé. .	2,12	3,07	2,56	3,25	2,15	4,90		0,0201
54°	2,38	3,02	2,54	3,22	2,15	4,90	1,06	0,0209
58°	2,16	2,74	2,30	2,92	2,34	4,76	1,46	0,0115
62°	1,70	2,16	1,86	2,36	3,05	3,88	2,85	0,0302
66° C	1,38	1,75	1,58	2,01	2,31	2,93	4,57	0,1180
70° C	1,18	1,50	1,45	1,84	1,70	2,16	6,10	0,4790
Même sérum dilué 1/2 :								
Non chauffé. .	2,26	2,87	2,43	3,08	2,35	4,77		0,0205
51°	2,37	3,01	2,47	3,14	2,30	4,71		0,0270
58°	2,18	2,77	2,34	2,97	2,20	4,59	1,32	0,0240
62°	2,00	2,54	2,18	2,77	2,08	4,43	1,72	0,0210
66°	1,68	2,13	1,83	2,32	1,62	3,85	2,75	0,0296
70°	1,25	1,59	1,44	1,33	2,15	2,73	5,13	0,1260
Même sérum dilué 1/4 :								
Non chauffé. .	2,42	3,07	2,58	3,28	2,40	4,84		0,0276
51°	2,40	3,05	2,56	3,25	2,40	4,84	1,04	0,0258
58° . , ...	2,24	2,84	2,41	3,06	2,25	4,65	1,30	0,0258
62°	2,15	2,73	2,34	2,98	2,25	4,65	1,48	0,0214
66°	1,91	2,42	2,07	2,63	2,00	4,33	2,11	0,0200
70°	1,54	1,96	1,70	2,16	1,42	3,06	3,59	0,0364

En effet, en appelant n la lecture initiale corrigée et n' la lecture corrigée obtenue après un certain chauffage, la valeur de $n - n'$ est égale à

$$\log \frac{I_0}{I} - \log \frac{I_0}{I'}$$

ou : $(\log I_0 - \log I) - (\log I_0 - \log I') = \log I' - \log I$ c'est-à-dire $\log \frac{I'}{I}$.

Et la racine carré de ce rapport $\sqrt{\frac{I'}{I}}$ est proportionnelle à $\frac{V'}{V}$ (d'après la formule de Rayleigh) c'est-à-dire

au rapport des volumes, ou si l'on préfère, aux accroissements de volume des particules chauffées par rapport à leur volume initial. C'est précisément cela qui nous intéresse et qui se trouve exprimé dans la colonne « Accroissements de volume » du tableau XX et des tableaux suivants, ainsi que dans les figures 46, 47 et suivantes. Les résultats seront discutés à la fin de ce chapitre.

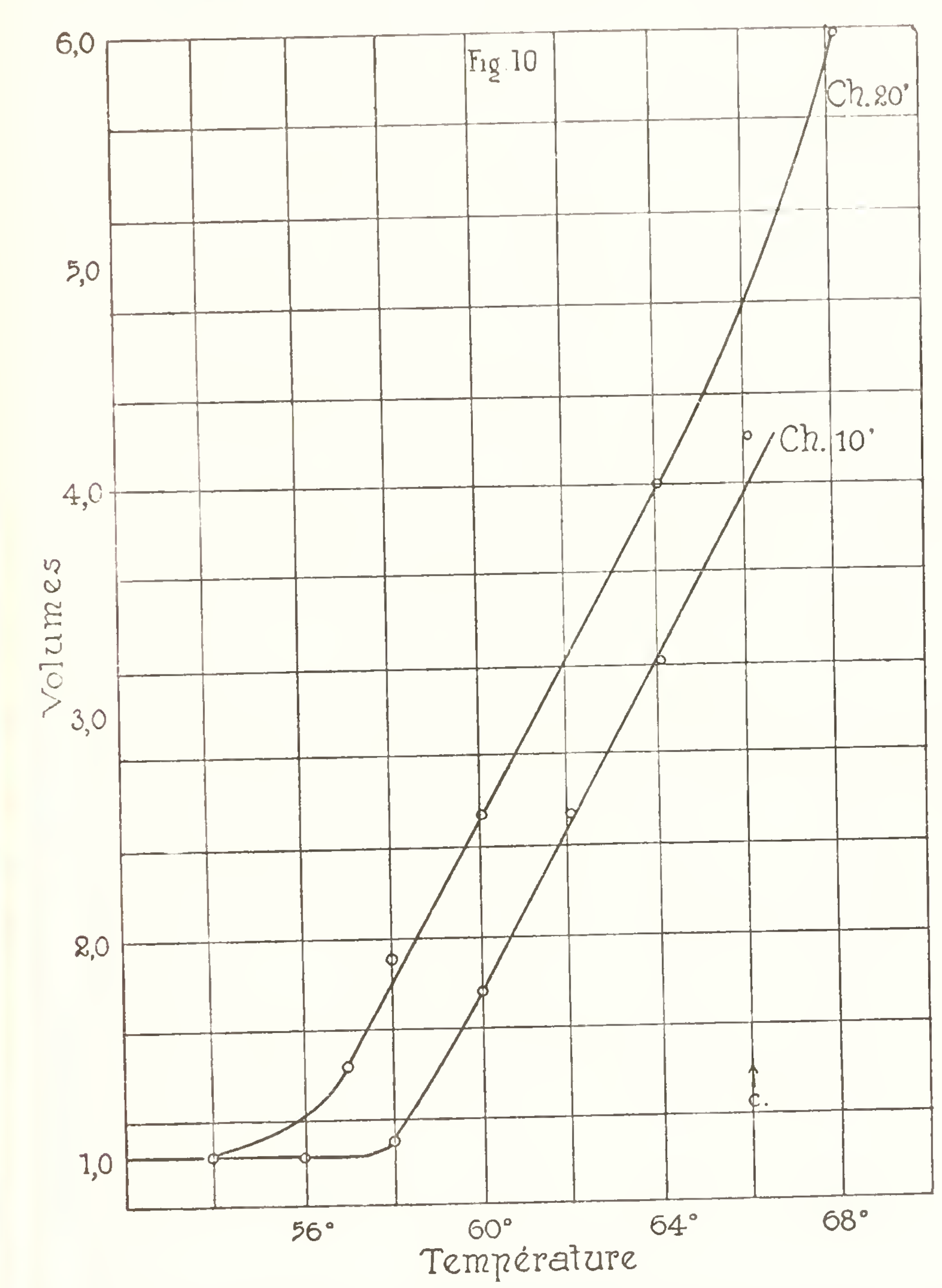


Fig. 46. — Accroissement du volume des molécules en fonction de la température, volumes calculés d'après la formule de Lord Rayleigh. Les ordonnées représentent des chiffres proportionnels au volume ; chauffage de dix à vingt minutes.

Le tableau XXII donne de même les chiffres obtenus avec du sérum dilué porté à de plus hautes températures. La lettre C placée après le chiffre exprimant la température indique que la solution était coagulée.

TABLEAU XXII. — *Expérience 12. Sérum normal de cheval n° 2 pur et dilué, chauffé dix minutes*

Température	Log $\frac{I_0}{I}$						Accroissement du volume d'une molécule V	Facteur de dépolarisation ρ
	Lumière normale		Lumière polarisée verticalement		Lumière dépolarisée			
	Lect.	Corr.	Lect.	Corr.	Lect.	Corr.		
Non chauffé. .	2,11	2,68	2,27	2,88	2,15	1,52		0,023
72°	1,10	1,40	1,31	1,66	1,81	2,31	4,36	0,210
74°	1,02	1,29	1,28	1,62	1,60	2,03	5,00	0,390
76° C	1,02	1,29	1,36	1,73	1,43	1,82	5,00	0,810
Même sérum dilué 1/4 :								
Non chauffé. .	2,13	2,70	2,29	2,91	2,10	4,46		0,023
72°	1,34	1,70	1,50	1,90	2,47	3,14	3,16	0,057
74°	1,12	1,42	1,31	1,66	1,97	2,50	4,36	0,145
76°	0,90	1,14	1,15	1,46	1,47	1,87	5,75	0,390
Trois heures de chauffage à 90°C	1,07	1,38	1,43	1,82	1,51	1,92	4,56	0,792

Les figures 46, 47, 48, 49 représentent les augmentations du volume des molécules en fonction de la température. Dans la figure 46, les temps de chauffage sont de vingt et dix minutes (sérum pur). On voit se reproduire le phénomène déjà signalé d'augmentation plus rapide à partir de 64-65°. Il est rare que le fait s'observe pour des chauffages de dix minutes, comme on peut s'en rendre compte par l'examen des figures suivantes. Cette incurvation est due probablement à un début de désintégration de la molécule et aux variations dans la valeur du second terme de la formule de lord Rayleigh [1], par suite de changement importants dans la valeur des indices de réfraction. Elle est d'autant plus marquée que le chauffage est plus prolongé.

Donc, au premier abord, si nous nous rappelons le début du

[1] Voir page 79.

chapitre et ce qui a été dit sur la signification du facteur de dépolarisation, nous voyons que tout se passe comme si, loin de devenir *plus* colloïdal, le sérum soumis au chauffage le devenait *de moins en moins*. Ses éléments diffusants deviennent de moins

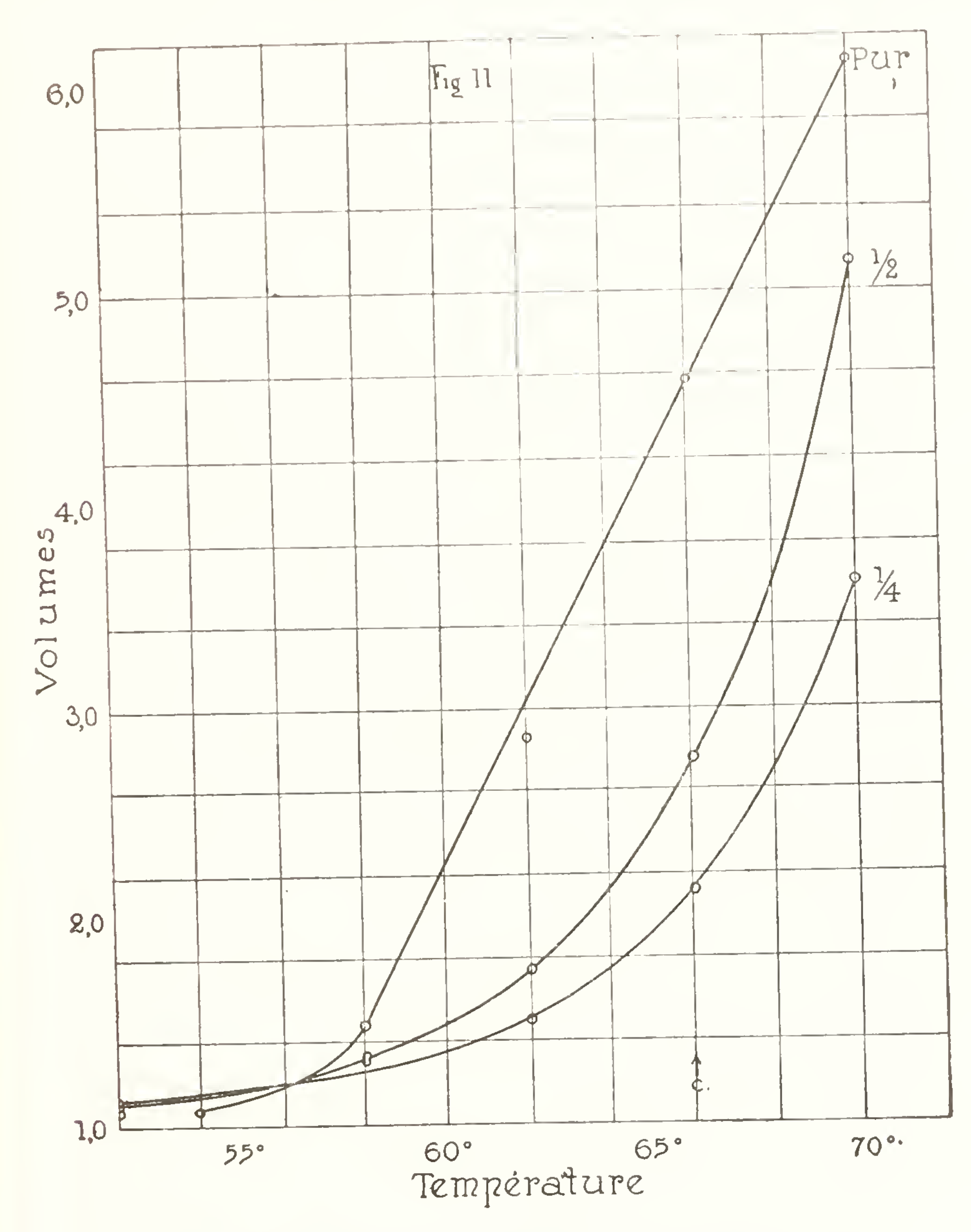


Fig. 47. — Accroissement du volume des molécules en fonction de la température. Sérum pur et dilué à 1/2 et au 1/4.

en moins isotropes. Son aspect colloïdal, laiteux, n'est pas dû à une agrégation de molécules, qui aurait pour effet d'augmenter l'isotropie statistique, mais uniquement à leur augmentation de volume par une hydratation qui modifie leurs propriétés optiques. Nous en donnerons bientôt d'autres preuves. Pour compléter les

données nécessaires pour suivre la discussion de ces résultats, il sera nécessaire de se reporter à la figure 34, page 81. Elle représente les accroissements de volume des molécules en fonction du temps de chauffage, chaque courbe correspondant à une tem-

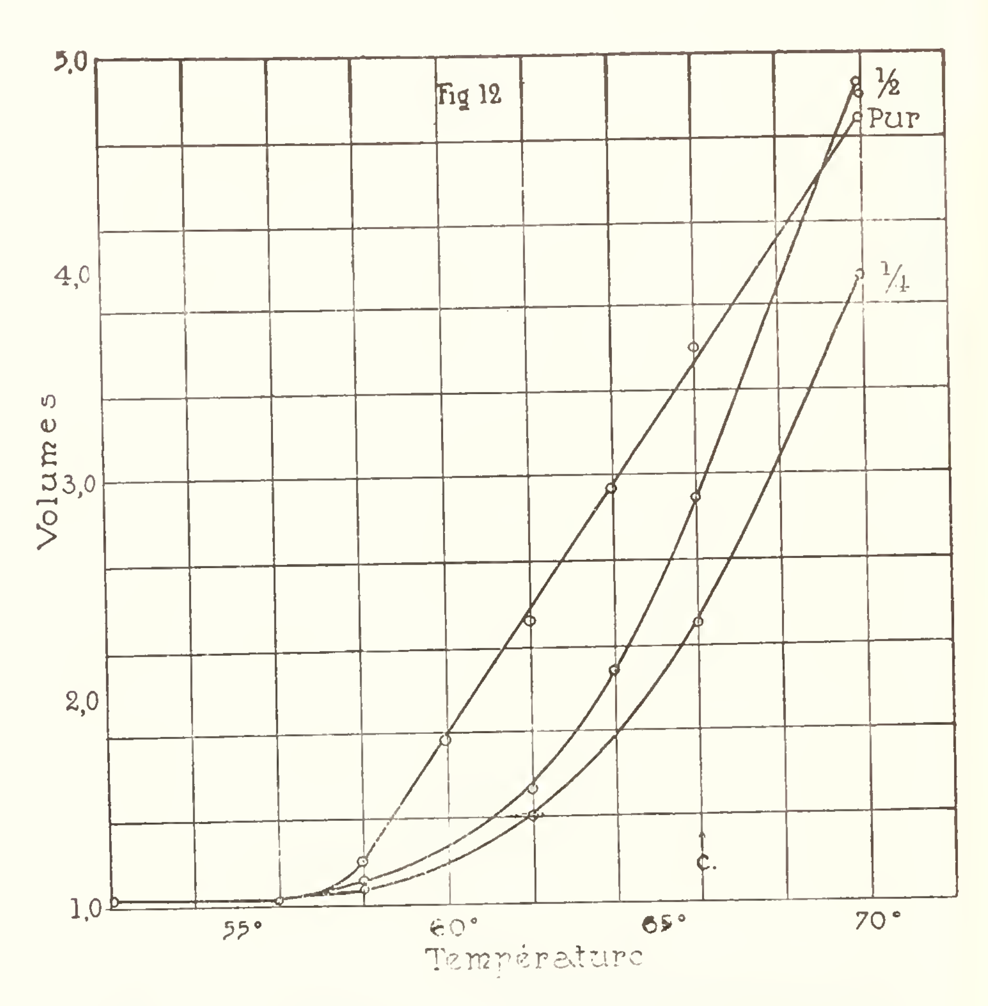


Fig. 18. — Accroissement du volume des molécules en fonction de la température. Sérum pur et dilué à 1/2 et au 1/4.

pérature déterminée. On remarque, pour les températures inférieures à 60°, la tendance à prendre une valeur constante : pour deux heures de chauffage à 55°, 57°, 58°, la valeur est sensiblement la même que pour une heure. Pour des chauffages au-dessus de 60°, cette tendance disparaît. Les deux courbes non numérotées à gauche, dans le haut de la figure, correspondent à 64° et 66°, l'explication de ce phénomène sera donnée dans les derniers paragraphes de ce chapitre.

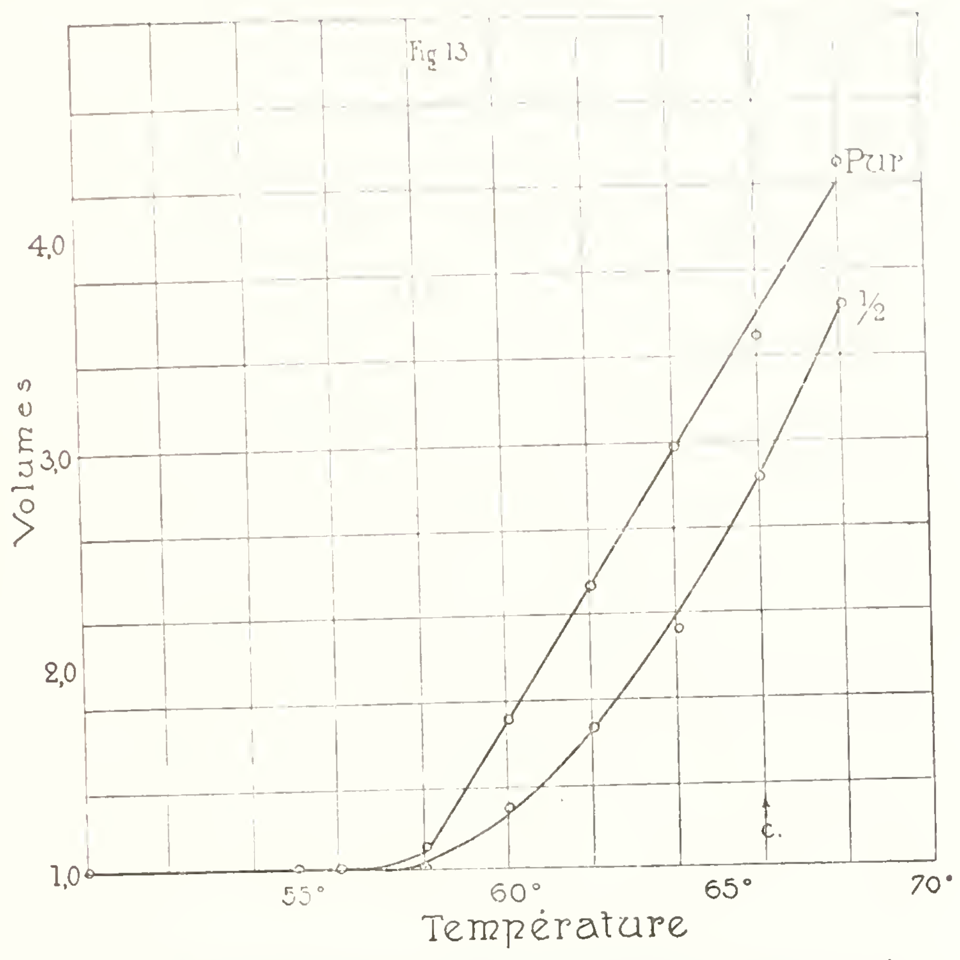


Fig. 19. — Accroissement du volume des molécules en fonction de la température. Sérum pur et dilué à 1/2.

Discussion et interprétation

Jusqu'ici, nous avions accepté l'opinion courante que les micelles ou molécules du sérum s'agrégeaient les unes aux autres quand la température dépassait 56°. Cette hypothèse ne paraissant pas d'accord avec les nouveaux faits expérimentaux que nous venons d'exposer, il n'est pas sans intérêt d'examiner à nouveau le processus de la coagulation du sérum à la lumière des observations réunies dans nos travaux précédents et particulièrement dans le présent chapitre.

La différence fondamentale entre le gel et le sol consiste dans le fait que les substances en solution ou en suspension, par suite de modifications quelconques, ont augmenté leurs dimensions au détriment du solvant, à tel point qu'elles occupent tout le volume de la solution. En d'autres termes, en désignant par φ le volume

occupé par les protéines, exprimé en pour cent du volume total, et dont la valeur moyenne pour du sérum de lapin est comprise entre 10,7 et 11,2 ([1]) et atteint 12 pour le sérum de cheval, nous pouvons admettre que $\varphi = 100$ pour le sérum coagulé. La différence entre φ et le volume réel des protéines sèches représente l'hydratation normale des protéines ([2]). Un volume déterminé de sérum de lapin normal contient donc environ 11 % de « molécules de sérum ». Il suffit par conséquent que le volume de chaque molécule augmente de 9 fois, au maximum, pour que la masse du sérum soit prise en solide coagulum, que toute l'eau soit fixée sur les molécules, et qu'il n'y ait plus trace de solvant liquide. *Or, cette augmentation de volume ne correspond qu'à une augmentation des dimensions linéaires de la molécule d'un peu plus de 2 fois* (exactement $\sqrt[3]{9} = 2{,}08$). Le « diamètre moyen » de la molécule ne serait donc que doublé, c'est-à-dire, si nous nous basons sur nos anciennes déterminations ([3]), qu'il serait de l'ordre de 80×10^{-8} centimètres ou 8 mμ. Il serait donc encore 50 fois plus petit que la plus courte longueur d'onde de lumière visible.

Mais ici, une question se pose : est-il possible d'admettre un tel degré d'hydratation pour des protéines, c'est-à-dire de l'ordre de 900 %. Nos mesures de viscosité nous ont conduit pour des sérums visqueux, mais non coagulés, à des valeurs de l'ordre de 300 %. Nos mesures de lumière diffusée, par application de la formule de Lord Rayleigh nous ont permis d'atteindre des valeurs de 500 % et parfois davantage, ce qui suffirait à légitimer une extrapolation satisfaisante. Mais tout récemment, M. Marinesco ([4]) est arrivé, par l'étude de la polarisation diélectrique, à des valeurs de 1.100 à 1.300 % pour l'ovalbumine, de 1.500 % pour l'hémoglobine et de 3.600 % pour la méthémoglobine. Le chiffre de 900 % n'a donc rien que de très normal pour du sérum coagulé, c'est-à-dire évidemment très hydraté.

L'application de la formule de Rayleigh nous a conduit à admettre des accroissements de volume des particules de l'ordre de 5 à 6 fois, mais ce n'est que l'impossibilité matérielle de faire pénétrer un coagulum rigide dans nos cuves de photomètre et la

([1]) Voir chapitre premier.

([2]) Kunitz (M.), *Journ. Gen. Physiol.*, **9**, 1926, p. 715.

([3]) Lecomte du Noüy, *J. Exp. Med.*, **39**, 1924, p. 717 ; *C. R.*, **178**, 1924, p. 1904.

([4]) Marinesco (N.), *C. R.*, **189**, 1929, p. 1274 et **187**, 1929, p. 718.

présence de bulles d'air qui nous a forcés de renoncer à étudier les sérums plus complètement coagulés. Or, la courbe qui exprime l'accroissement de la quantité de lumière diffusée est continue depuis la limpidité et la fluidité normales jusqu'à la coagulation absolue. Aucun changement d'allure ne se produit au moment de la gélation : le phénomène suit son cours identique, malgré le changement macroscopique.

Non seulement les courbes qui représentent l'accroissement du volume des molécules ne montrent aucun changement d'allure, comme on peut s'en rendre compte (fig. 46 à 48) quand la solution s'immobilise en passant d'une haute viscosité au stade de la coagulation, mais aussi quand le gel devient de plus en plus rigide, par suite de chauffage prolongé. Entre deux coagulums obtenus par chauffage de dix minutes à 66° et à 68° par exemple, la différence de la lumière diffusée, c'est-à-dire l'accroissement du volume des particules, est sensiblement la même qu'entre trois sérums liquides chauffés pendant 10 minutes à 62°, 64°, 66°. En d'autres termes, l'accroissement de volume, entre certaines limites naturellement, reste fonction à peu près linéaire de la température, que la masse soit coagulée ou non. Ce phénomène serait très difficilement explicable si l'on admettait que l'augmentation du volume des micelles fût due à l'accolement des micelles entre elles, tandis qu'il devient extrêmement clair si l'on considère que cette augmentation n'est due qu'à la fixation progressive de molécules d'eau [1].

Assurément, il se produit des agglomérats ; mais c'est là l'exception et non la règle, et leur nombre reste toujours très petit par rapport au nombre total de molécules. Les particules que l'on voit à l'ultra-microscope — et que l'on observe dans des solutions de sucre, sont, nous l'avons montré [2], très rares dans le sérum normal propre. Leur nombre augmente certainement par suite du chauffage, mais ne représente jamais qu'une faible proportion de molécules, de l'ordre de 1/100.000 du nombre total.

(1) Krishnamurti a fait la même observation en étudiant les solutions d'agar et en tire la conclusion suivante : « Si l'accroissement de la lumière diffusée était due à l'agrégation des micelles, il devrait y avoir une augmentation brusque dans la lumière diffusée juste au moment où la solution devient un gel, et le nombre de Tyndall devrait ensuite rester constant. » *Loc. cit.*, p. 89.

(2) Lecomte du Noüy, *Equilibres superficiels des solutions colloïdales*, Masson, Paris, 1929, pp. 196 et suiv.

Il est facile de s'en rendre compte par des numérations soignées. Ces gros granules se forment probablement surtout autour de noyaux de dimensions déjà très supérieures aux dimensions moléculaires et qui existent toujours dans le sérum, quelque précaution que l'on prenne.

Parmi les expériences rapportées dans le présent chapitre, il en est quelques-unes qui semblent pouvoir nous renseigner de façon plus définitive sur la question de l'agrégation : ce sont celles effectuées avec le sérum dilué.

Admettons, en effet, que le sérum soit essentiellement composé de micelles en suspension colloïdale et que l'accroissement du volume de ces micelles soit dû à un accolement consécutif à l'action de la chaleur. Dans ce cas, le nombre des particules qui s'accoleront sera évidemment proportionnel au nombre de chocs par unité de temps. Dans le sérum pur, le nombre de particules dans l'unité de volume étant n, le nombre de chocs est proportionnel à n^2. Si nous répétons les expériences en employant du sérum dilué de moitié avec de la solution physiologique à 0,9 % de NaCl, et que nous soumettions cette solution au chauffage, les conditions seront changées. Il y a moitié moins de particules par unité de volume, soit $\frac{n}{2}$ et par conséquent le nombre de chocs sera proportionnel à $\left(\frac{n}{2}\right)^2$, c'est-à-dire 4 fois moins grand, en supposant toutes choses égales d'ailleurs. Il faut donc logiquement s'attendre à ce que la vitesse d'accroissement des particules soit 4 fois moins grande que pour le sérum pur. Quand le sérum est dilué au 1/4 (25 % de sérum et 75 % de solution physiologique) le phénomène devrait être 16 fois moins rapide, à condition encore de négliger l'appauvrissement progressif de la suspension par suite de la fixation des particules. Or, ce n'est pas du tout ce que nous observons expérimentalement : les figures 47 à 49 montrent bien que, si le phénomène est en effet plus lent au début, les courbes tendent ensuite à se rapprocher et même à rejoindre celles qui expriment la vitesse d'accroissement des particules du sérum pur. Au lieu d'être 4 fois ou 16 fois plus faible, la vitesse est d'abord moindre — mais jamais dans la proportion de 1 à 4 — puis égale et enfin plus grande, ce qui indique que l'accroissement ne peut être dû à l'accolement de particules de

même nature, mais à un phénomène tout différent. Or, si la température — qui aboutit à la coagulation — ne détermine pas une agrégation micellaire, il n'y a guère de raison pour admettre qu'il existait de tels agrégats amicroniques dans le sérum normal. Le phénomène d'augmentation de volume est donc, suivant nos expériences, essentiellement un phénomène d'hydratation moléculaire dans une solution moléculairement dispersée. Nous sommes, croyons-nous, bien fondés à n'employer que le mot « molécule » et à éliminer les termes tels que particule et micelle, en parlant du sérum en général. Le sérum n'est donc pas une solution colloïdale, au sens d'agrégats moléculaires, mais une solution vraie de très grosses molécules et l'aspect opalin « colloïdal » classique du sérum chauffé serait dû à une diffusion moléculaire de la lumière. Nous allons développer ces arguments dans les pages suivantes.

Dans un sérum dilué à 50 %, la coagulation complète ne peut se produire à la même température, pour le même temps de chauffage, car la distance moyenne entre les molécules étant doublée, puisque leur nombre est réduit de moitié, elles ne peuvent aussi rapidement atteindre les dimensions nécessaires pour occuper tout l'espace de la solution. Leur volume peut augmenter cependant bien au delà du volume atteint par les molécules dans le sérum pur chauffé, puisqu'en chauffant dix minutes à 76° la coagulation est obtenue. Dans ce cas, l'hydratation atteint une valeur évidemment double, soit 1.800 %. Mais ce chiffre semble très proche de la limite extrême, car lorsqu'on chauffe une solution de sérum à 25 %, soit 2 fois moins concentrée, il faut chauffer à 90° pendant trois heures pour obtenir la coagulation, et il se produit un phénomène nouveau : le coagulum exsude spontanément l'eau en excès et la concentration du sérum dans le coagulum est ramenée à peu près à 50 %. Dans ce cas, l'hydratation atteint 2.000 %.

Lorsque la molécule est distendue à l'extrême, des ruptures se produisent dans les chaînes, l'intégrité de l'édifice n'est plus maintenue et il en résulte des désagrégations et des précipitations. La valeur n_1 de l'indice de réfraction des particules est profondément altérée, et le second terme entre parenthèses de la formule de Rayleigh entre en jeu. On comprend maintenant la signification de l'expression de « déplacement de la température de coagulation » quand le sérum est dilué.

Non seulement l'élévation de température ne détermine pas d'agrégation, mais tout se passe comme si, au contraire, elle aboutissait, dans le sérum dilué, à un *fractionnement de la molécule initiale*. Ceci ressort clairement des expériences 12, 13 et 14 (Tableaux XX à XXII, pp. 103 à 106) et du raisonnement suivant.

Nous avons vu (tableau XX, fig. 47 à 49) que les courbes représentant l'accroissement du volume des molécules dans le sérum dilué étaient déplacées vers la droite (hautes températures). Nous venons d'expliquer comment le seul fait de l'augmentation de la distance moyenne entre les molécules permet de comprendre le déplacement de la température de coagulation. Mais les courbes du sérum dilué ne sont pas parallèles à celles du sérum pur sur tout leur parcours ; nous pouvons essayer, en nous basant sur notre hypothèse et sur l'application de la formule de Rayleigh, de nous rendre compte des limites entre lesquelles l'hypothèse précitée est valable pour le sérum dilué et de comprendre la signification des écarts.

Pour cela, revenons à la formule de Rayleigh. Pour la lumière diffusée à angle droit, elle s'écrit :

$$I = \frac{9\nu\pi V^2 A^2}{\lambda^4 x^2}\left(\frac{n_1^2 - n^2}{n_1^2 + 2n^2}\right)^2$$

où ν = le nombre de particules par unité de volume, V^2 = le carré moyen du volume des particules, n_1 l'indice de réfraction des particules et n l'indice de réfraction du solvant. Les autres lettres représentent des quantités constantes dans des conditions expérimentales déterminées (1).

(1) Voir chapitre précédent.

On nous a objecté que si un « gel » est considéré comme formé de particules colloïdales gonflées jusqu'à remplir tout l'espace disponible, « la diffusion d'une substance dissoute dans ce gel devrait être beaucoup plus lente que dans l'eau pure, alors qu'en fait elle est aussi rapide » (Duclaux).

Nous répondrons que, 1° nous nous sommes bien gardés de généraliser les propriétés des « gels » au sérum coagulé ou en voie de coagulation, puisqu'il est indiscuté aujourd'hui que le sérum est une solution moléculairement dispersée ; 2° que précisément, la diffusion d'une substance (fluorescéine par exemple) est plus lente dans le sérum coagulé que dans le sérum liquide. On admet d'ailleurs que la diffusion des grosses molécules peut être ralentie. L'objection ne porte donc que sur les petites molécules cristalloïdes. Mais il est clair que les contacts entre molécules ne se font pas suivant des plans. Les molécules ressemblent plus à une pelote garnie d'épingles qu'à une pelote nue, et les petites molécules peuvent toujours passer entre les groupes. Une molécule n'est pas un corps solide.

En éliminant les valeurs constantes, et en les remplaçant par une autre, C, elle peut, nous l'avons dit, se ramener à la forme :

$$I = CV^2$$

C'est sous cette forme simplifiée que nous l'avons employée pour obtenir des chiffres proportionnels à V, ou plus exactement aux accroissements de V. Mais si nous passons au sérum dilué de moitié, nous devons, pour étudier les relations quantitatives avec le sérum pur, réintroduire le facteur ν qui représente le nombre de particules présentes par unité de volume, et que nous avions pu éliminer puisque nous opérions sur un même sérum et que seules les variations nous intéressaient. Nous aurons donc :

$$I_1 = C\nu_1 V^2$$

Or, comme nous l'avons fait remarquer plus haut (p. 105) ce n'est pas le volume des particules en valeur absolue qui nous importe, mais uniquement le *rapport* de leurs volumes avant et après chauffage, c'est-à-dire l'accroissement de volume dû au chauffage. Appelons dV cet accroissement.

Etant donné que :

$$\frac{I'}{I} = k\,\frac{V'^2}{V^2} \qquad k \text{ étant une constante,}$$

cet accroissement sera égal à

$$dV = \sqrt{\frac{I'}{I}} = k\,\frac{V'}{V}$$

dans le cas où le nombre de particules n'entre pas en jeu.

Si nous voulons savoir de quelle façon doit théoriquement se comporter l'accroissement de volume des particules dans le sérum dilué, par rapport à ce qui se passe dans le sérum non dilué, il suffit de calculer l'accroissement de volume dV_1, par rapport à dV dans le cas où le nombre ν_1 de particules n'est plus le même.

On aura donc pour le sérum dilué, en affectant de l'indice $_1$ les valeurs correspondantes de I et de ν :

$$\frac{I_1'}{I_1} = k\,\frac{\nu_1}{\nu}\,\frac{V'^2}{V^2}$$

ce qui donne pour dV_1 :

$$dV_1 = \sqrt{\frac{I_1'}{I_1}} = k\sqrt{\frac{\nu_1}{\nu}}\cdot\frac{V'}{V}\cdot$$

En effet, si les rapports des lectures (sérum dilué et non dilué)

$$\frac{I_1'}{I_1} \neq \frac{I'}{I}$$

diffèrent, les accroissements de volume sont évidemment les mêmes pour un écart de température identique, et les différences observées entre $\frac{I_1'}{I_1}$ et $\frac{I'}{I}$ ne dépendent plus que du rapport des concentrations, c'est-à-dire du nombre de particules diffusantes par unité de volume $\frac{\nu_1}{\nu}$.

Il vient donc :

$$\frac{dV_1}{dV} = k\sqrt{\frac{\nu_1}{\nu}}$$

c'est-à-dire que le rapport des accroissements de volume dans le cas du sérum dilué et non dilué sera proportionnel (entre certaines limites, bien entendu), à la racine carrée du rapport des concentrations.

Dans le cas particulier où $\nu_1 = \frac{\nu}{2}$ (sérum dilué de moitié)

$$\sqrt{\frac{\nu_1}{\nu}} = \frac{1}{\sqrt{2}}$$

donc

$$\frac{dV_1}{dV} = k\frac{1}{\sqrt{2}} \quad \text{et} \quad dV_1 = \frac{dV}{\sqrt{2}}.$$

Les accroissements de volume dans le sérum dilué de moitié doivent donc d'après la formule de Lord Rayleigh, s'il ne se produit pas d'accolement, et s'ils ne sont dus qu'à un gonflement individuel, être égaux au quotient des accroissements de volume dans le sérum pur par $\sqrt{2}$, soit 1,413.

Si le sérum est dilué au quart,

$$dV_2 = \frac{dV}{\sqrt{4}}, \quad \text{ou} \quad \frac{dV}{2}.$$

Rappelons que le photomètre nous donne directement des valeurs (Lectures)

$$n = \log\frac{I_0}{I}, \quad n' = \log\frac{I_0}{I'} \quad \text{etc.},$$

d'où l'on tire aisément par le calcul (voir p. 104) les valeurs de

$$dV = \sqrt{\frac{I'}{I}}, \quad dV_1 = \sqrt{\frac{I_1'}{I_1}}, \text{ etc.}$$

On peut donc facilement contrôler expérimentalement l'exactitude de ce raisonnement.

Ainsi, théoriquement, et en admettant qu'aucun autre facteur n'entre en jeu, les courbes représentant les valeurs de dV, dV_1 et dV_2 obtenues pour le sérum pur et dilué à moitié et au quart, devraient, d'après notre hypothèse et entre certaines limites, pouvoir se calculer en divisant les valeurs obtenues pour le sérum pur par 1.41, et 2.

Si, par contre, l'accroissement se produit par agrégation micellaire, les valeurs de dV du sérum pur devraient être divisées par 4 et par 16 pour correspondre à celles des sérums dilués. Les résultats de trois séries d'expériences sont rassemblés dans le tableau ci-dessous (XXIII).

TABLEAU XXIII

Température en degrés chauffage 10 minutes	Sérum pur dV observé	Sérum dilué 1/2 dV_1 observé	Valeurs calculées d'après $dV_1 = \frac{dV}{\sqrt{2}}$ pas d'agrégation	Valeurs calculées d'après $dV_1 = \frac{dV}{4}$ avec agrégation
Expérience 1 (20 mars)				
58 . . .	1,32	1,00	0,95	0,33
60 . . .	1,75	1,28	1,24	0,44
62 . . .	2,30	1,65	1,63	0,57
64 . . .	2,95	2,10	2,10	0,74
66 . . .	3,55	2,80	2,52	0,89
68 . . .	4,28	3,60	3,04	1,07
Expérience 2 (26 mars)				
58 . . .	1,20	1,05	0,85	0,30
60 . . .	1,45	1,15	1,03	0,36
62 . . .	2,25	1,60	1,60	0,56
64 . . .	3,20	2,50	2,26	0,80
66 . . .	4,17	2,93	2,95	1,04
68 . . .	5,20	3,60	3,60	1,28
Expérience 3 (31 mars)				
58 . . .	1,20	1,10	0,85	0,30
60 . . .	1,78	1,26	1,26	0,44
62 . . .	2,32	1,53	1,64	0,58
64 . . .	2,94	2,09	2,08	0,73
66 . . .	3,60	2,89	2,56	0,90
70 . . .	4,68	4,80	3,31	1,17

On se rend compte immédiatement que les chiffres de la cinquième colonne ne peuvent en aucune façon exprimer le phénomène, tandis que ceux de la quatrième le suivent d'assez près jusqu'à une certaine température. En général, à partir de 66°, un écart se manifeste qui peut devenir très grand (expériences 1 et 3). L'apparence même des courbes obtenues avec le sérum dilué indique bien qu'il ne peut y avoir de concordance absolue, puisque celles qui correspondent au sérum pur sont presque rectilignes et que les autres présentent une forte incurvation. Quand le sérum est dilué au quart, l'accord est parfois aussi bon que dans les expériences ci-dessus, mais pas d'une façon générale ; néanmoins, et c'est le seul point sur lequel nous insistons, les chiffres sont *bien plus proches des valeurs observées* que ceux obtenus en divisant les valeurs obtenues pour le sérum pur par 16. Le tableau ci-dessous donne les valeurs observées et calculées pour cette dilution (XXIV).

Tableau XXIV

Température en degrés	Sérum pur V observé	Sérum dilué 1/4 V_2 observé	Valeurs calculées d'après $V_2 = \frac{V}{\sqrt{4}}$	Valeurs calculées d'après $V_2 = \frac{V}{16}$
58 . . .	1,20	1,04	0,60	0,075
60 . . .	1,15	1,10	0,72	0,091
62 . . .	2,25	1,33	1,12	0,110
64 . . .	3,20	1,62	1,60	0,200
66 . . .	1,17	1,85	2,00	0,260
68 . . .	5,20	2,65	2,55	0,320

Il est clair que d'autres facteurs entrent en jeu quand le sérum est dilué et chauffé. Mais, étant donné que toutes les courbes du sérum dilué tendent à partir de 66° à se rapprocher et même à couper la courbe du sérum pur, c'est-à-dire que la quantité de lumière diffusée croît plus vite dans le sérum dilué et dépasse parfois celle du sérum pur ; étant donné, d'autre part, que nous savons qu'il ne se produit pas d'agrégations, il ne reste plus qu'une variable qui puisse influencer la quantité de lumière diffusée, à savoir *le nombre de particules diffusantes*. Or, pour

que ce nombre augmente, à concentration constante, il faut admettre qu'il se produit un fractionnement des molécules à partir d'une certaine température (vers 65°).

Les structures protéiques ne sont pas indéfiniment extensibles, et, en élevant la température au delà d'une certaine limite, on détruit la molécule qui se scinde en ses éléments, plus vite que dans le sérum pur, car pour celui-ci, à cette température, la gélation a déjà commencé et les molécules sont serrées les unes contre les autres, ce qui empêche l'effritement, la désagrégation de l'échafaudage originel.

La mesure du facteur de dépolarisation pour le sérum dilué permet de se rendre compte que le phénomène est en principe le même que pour le sérum pur. L'anisotropie optique devient énorme : ρ atteint des valeurs de 0,80, qui indiquent que 20 % seulement de la lumière diffusée est polarisée. C'est presque de la réflexion pure. Les courbes sont toujours très régulières et à partir de 64° la valeur de ρ augmente avec une très grande vitesse. Nous n'avons pas observé de transition entre le liquide et le gel. Quand le sérum dilué de moitié est porté à 76° (dix minutes) et qu'il coagule, la valeur de ρ, nous l'avons vu, est plus grande que celle du sérum chauffé à 70°. Il est probable que la molécule est complètement disloquée.

Il est hors de doute que les conclusions auxquelles nous avons abouti, à savoir qu'il ne se produit pas d'agrégation par suite du chauffage, et que le sérum n'est pas une solution colloïdale au sens de suspension de particules amorphes et isotropes composées de molécules agrégées, est contraire à l'opinion généralement acceptée et enseignée. Ce fait est en lui-même trop important pour que le lecteur, dont la notion de « colloïde biologique » à laquelle il est habitué depuis longtemps, est remplacée par une autre, l'accepte sans discuter.

On comprendra donc que nous tenions à renforcer notre thèse de toutes les façons possibles et que nous apportions une nouvelle preuve quantitative de l'exactitude de notre interprétation. Cette preuve, à notre avis très convaincante, est due au professeur A. Boutaric, dont les beaux travaux sur les colloïdes sont bien connus. Elle est basée sur un raisonnement et des expériences tout différents (absorption lumineuse, et non plus diffusion laté-

rale) [1]. La première partie du mémoire de M. Boutaric est consacrée à l'étude mathématique des variations du coefficient h dans la formule exprimant l'intensité I d'un faisceau de lumière après avoir traversé une épaisseur l de milieu trouble :

$$I = I_0 \, e^{-hl}$$

I_0 désignant, suivant la coutume, l'intensité du faisceau incident. Ce coefficient h, pour de petites particules sphériques est donné par la formule de Lord Rayleigh :

$$h = \frac{A}{\lambda^4} \, \nu V^2 \left(\frac{n_1^2 - n^2}{n_1^2 + 2\,n^2}\right)^2$$

où les symboles ont la même signification que ceux de la formule analogue (pour la lumière diffusée) citée page 114.

Étudiant successivement la façon dont h varie si l'accroissement du volume des particules est dû à l'accolement seul, au gonflement individuel sans accolement, et à la combinaison des deux mécanismes, et en tenant compte du fait qu'il peut exister dans la solution des particules de tailles différentes, M. Boutaric démontre que dans tous les cas h varie proportionnellement au volume V des particules individuelles, et que l'étude de ces variations peut renseigner de façon précise sur les changements qu'éprouve le volume individuel des particules en suspension au cours d'une évolution de celui-ci, du moins tant que les particules sont suffisamment petites pour que la formule de Lord Rayleigh soit applicable. Nous avons montré plus haut qu'il devait en être ainsi. Au cas où les dimensions deviennent plus grandes, le terme λ^4 de la formule doit être remplacé par un autre λ^m, l'exposant m étant inférieur à 4 et d'autant plus petit que les particules sont plus grosses (Boutaric, *Thèse*, Paris, 1918).

Or, il existe une autre propriété des suspensions qui est en relation, nous l'avons vu, avec le volume des particules : c'est la viscosité. Il existe trois formules, d'Einstein, d'Arrhenius et de Kunitz [2] qui rattachent la viscosité au volume total occupé par les particules dans la suspension et montrent que la viscosité

(1) A. Boutaric. *Remarques sur l'étude des transformations pouvant se produire dans les milieux troubles. Bull. Soc. Chim.*, 4e série, **49**, p. 389, 1931.

(2) Voir page 39.

dépend seulement du volume total des particules et non de leur volume individuel, c'est-à-dire du degré de dispersion de la matière.

Examinons maintenant comment variera le coefficient de viscosité η au cours de l'évolution d'une suspension dans les deux cas qui nous intéressent :

a) Si les particules grossissent par accolement sans qu'intervienne le solvant, le volume total des particules ne varie pas et la viscosité conserve la même valeur ;

b) Si les particules grossissent par gonflement dans le solvant, la viscosité η, qui, d'après la formule d'Einstein est une fonction linéaire du volume total φ occupé par les particules contenues dans l'unité de volume de la suspension, est aussi, si le nombre des particules est invariable, une fonction linéaire du volume des particules individuelles. Dans le cas où la viscosité est liée au volume des particules par les relations d'Arrhenius ou de Kunitz, le volume φ est encore une fonction croissante de la viscosité et la considération de cette fonction : $\varphi = f\left(\frac{\eta}{\eta_0}\right)$ renseigne sur le volume total des particules.

Dans tous les cas, l'étude de la viscosité fournit des indications qui complètent celles qu'on peut tirer de l'étude du coefficient h d'absorption lumineuse.

En résumé, si au cours de l'évolution d'une suspension le coefficient h d'absorption lumineuse va en croissant, il faut en conclure que le volume des particules individuelles a augmenté, ce volume étant proportionnel à h.

Si la viscosité ne varie pas, il faut en conclure que l'évolution de la suspension s'est produite par accolement mutuel des particules sans intervention du solvant. Si la viscosité augmente, c'est qu'il y a eu fixation du solvant par les particules.

Et par conséquent la comparaison des mesures de viscosité et du coefficient d'absorption lumineuse (densité optique) permet d'étudier comment varie le nombre ν des particules en suspension. Car le volume total φ des particules étant fonction $f\left(\frac{\eta}{\eta_0}\right)$ de la viscosité relative de la suspension par rapport au solvant, et le coefficient h d'absorption lumineuse étant proportionnel au

volume V des particules individuelles, le quotient :

$$\frac{f\left(\frac{\eta_1}{\eta_{10}}\right)}{h}$$

donne le nombre de ces particules.

Or, le tableau ci-dessous (XXV) reproduit, pour deux séries de mesures isolées de densité optique et de viscosité du sérum :

Tableau XXV

Température	$\log \frac{I_0}{I}$	$\frac{\eta_1}{\eta_{10}}$	$f\left(\frac{\eta_1}{\eta_{10}}\right)$			$\frac{f\left(\frac{\eta_1}{\eta_{10}}\right)}{\log \frac{I_0}{I}}$		
			E	A	K	E	A	K
50°	0,10	1,8	0,7	0,223	0,12	7,5	2,2	1,2
55°	0,11	1,8	0,8	0,249	0,13	7,7	2,3	1,1
58°	0,11	1,9	0,9	0,283	0,15	8,3	2,5	1,3
60°	0,14	2	1	0,314	0,15	7,8	2,3	1,1
62°	0,16	2,3	1,3	0,358	0,18	8	2,3	1,1
64°	0,21	2,9	1,9	0,464	0,22	9	2,2	1
66°	0,23	4	3	0,612	0,27	13,5	2,6	1,2

On trouve dans ce tableau :

1° Les valeurs $\log \frac{I_0}{I}$ du logarithme du quotient de l'intensité lumineuse initiale à l'intensité transmise pour du sérum chauffé dix minutes à diverses températures t et ensuite refroidi ;

2° Les valeurs de la viscosité relative $\frac{\eta_1}{\eta_{10}}$ pour du sérum chauffé aux mêmes températures ;

3° Les valeurs des fonctions $f\left(\frac{\eta_1}{\eta_{10}}\right)$ fournies par les relations d'Einstein (E), d'Arrhénius (A) et de Kunitz (K);

4° Les quotients :

$$\frac{f\left(\frac{\eta_1}{\eta_{10}}\right)}{\log \frac{I_0}{I}}$$

relatifs à ces diverses fonctions qui, comme nous l'avons esquissé plus haut (voir le mémoire original pour les calculs), sont proportionnels au nombre ν des particules.

TABLEAU XXVI

Température	Log $\frac{I_0}{I}$	$\frac{\eta_t}{\eta_{t0}}$	$f\left(\frac{\eta_t}{\eta_{t0}}\right)$			$\frac{f\left(\frac{\eta_t}{\eta_{t0}}\right)}{\text{Log} \frac{I_0}{I}}$		
			E	A	K	E	A	K
50° . . .	0,105	1,937	0,91	0,287	0,14	8,9	2,7	1,3
55 . . .	0,108	1,947	0,95	0,289	0,14	8,8	2,7	1,3
58 . . .	0,120	2,007	1,00	0,302	0,15	8,4	2,5	1,2
60 . . .	0,140	2,123	1,12	0,327	0,16	8	2,3	1,1
62 . . .	0,165	2,315	1,31	0,364	0,17	8	2,2	1
64 . . .	0,222	2,619	1,70	0,423	0,20	7,4	1,9	0,9
66 . . .	0,238	3,315	2,32	0,520	0,24	9,7	2,2	1

Le tableau XXVI donne des résultats analogues pour lesquels l'auteur a combiné trois séries de mesures de densité optique et trois séries de mesures de viscosité, les valeurs de log $\frac{I_0}{I}$ et de $\frac{\eta_t}{\eta_{t0}}$ étant les moyennes des trois déterminations.

« Ainsi, on voit que, aux erreurs d'expériences près, les mesures de viscosité et de densité optique conduisent à admettre que le nombre des particules présentes dans le sérum ne varie pas au cours des transformations que produit l'échauffement. (Les trois dernières colonnes présentent des chiffres sensiblement constants ; la moins bonne est celle qui correspond à la formule d'Einstein, mais on sait que Kunitz a montré qu'elle ne s'appliquait que dans le cas des solutions très diluées [1], ce qui est loin d'être le cas ici.) Les molécules de sérum gonflent par fixation d'eau sans que leur nombre varie. Ces résultats confirment donc d'une manière très nette les conclusions formulées par M. Lecomte du Noüy à partir d'autres considérations théoriques. »

Il semble donc bien établi que malgré son aspect typiquement colloïdal, le sérum chauffé ne renferme ni plus ni moins de particules diffusantes que le sérum frais, qu'il ne s'est produit ni

(1) KUNITZ, *Journ. of Gen. Physiol.*, **9**, 715 (1926).

agrégation ni désagrégation (tout au moins pour des chauffages courts), que les molécules ont simplement augmenté de volume et que leur anisotropie optique s'est augmentée.

Nous pouvons maintenant essayer de nous faire une idée du mode de fixation des molécules d'eau aux molécules de sérum, de façon à expliquer les phénomènes précédents.

Pour cela, nous disposons de quatre faits expérimentaux principaux en ce qui concerne le sérum normal, à savoir :

1° Le volume des molécules n'augmente que lorsque la température atteint environ 55° ;

2° Le volume des molécules augmente ensuite de façon constante, et à peu près linéairement en fonction de la température ;

3° Le facteur de dépolarisation augmente de façon continue et atteint de hautes valeurs ;

4° Il ne se produit pas d'accolement de molécules par suite du chauffage. Le nombre de particules diffusantes reste constant.

Il nous a été impossible de trouver dans la littérature une précision quelconque au sujet du mécanisme même de l'hydratation. Les termes rencontrés généralement sont « hydratation », « fixation de molécules d'eau », « adsorption d'eau ». Marinesco parle de l'épaisseur de la périsphère d'eau (1). Nous n'avons pas encore réussi à dégager l'idée des différents auteurs en ce qui concerne la place où les molécules d'eau viennent se fixer. C'est un détail qui est généralement passé sous silence. A notre connaissance, il n'a pas fait l'objet de travaux spéciaux, mais nous n'avons pas la prétention d'avoir lu tout ce qui a été publié sur ce sujet, dans toutes les langues.

Il semble cependant qu'à l'heure actuelle la tendance générale soit de considérer que les molécules d'eau s'adsorbent à la périphérie de la molécule protéique. Voyons quelles sont les conséquences de cette manière de voir. Au fur et à mesure du chauffage, les molécules s'adsorbent en plus grand nombre, et finissent par entourer la grosse molécule protéique d'une couche d'eau dont l'épaisseur va en augmentant, à tel point qu'elle atteint,

(1) « Dans le cas de la méthémoglobine, où l'on connaît le poids moléculaire moyen, on trouve pour l'épaisseur de la périsphère d'eau (comprimée par attraction diélectrique), 70.10^{-8} centimètres, tandis que le noyau de la micelle a un rayon égal à 27.10^{-8} centimètres. » MARINESCO, *C. R.*, **187**, p. 70 (1928).

d'après nos expériences et nos calculs, une valeur égale environ à la moitié du « diamètre moyen » de la molécule de sérum normale soit à peu près l'épaisseur de 20 molécules d'eau (H_2O, monohydrol). Quand cette épaisseur est atteinte, le volume total de la molécule, y compris son enveloppe d'eau, est multiplié par 9 et il y a contact entre l'eau fixée sur toutes les molécules : le sérum est coagulé. Or, d'après cette hypothèse, ce ne sont pas les molécules qui seraient en contact, mais leur eau d'adsorption. Quelle serait alors la différence entre le sérum à l'état liquide, dans lequel les molécules se trouvent à la même distance les unes des autres, et le gel, où rien n'est changé si ce n'est que l'eau est « adsorbée »? Quelle est la signification de cette force mystérieuse d'adsorption qui se ferait sentir à travers une épaisseur d'une quarantaine de couches moléculaires d'eau sur des couches d'eau sous-jacentes? Pure action électrostatique, dit-on. Le gel serait à proprement parler constitué par de l'eau immobilisée par des forces, et non par une structure. Il serait alors difficile de comprendre pourquoi l'anisotropie optique de la molécule, révélée par les mesures du facteur de dépolarisation, augmenterait constamment et d'autant plus vite que la coagulation est plus avancée. Il serait même difficile de comprendre pourquoi la quantité de lumière diffusée (proportionnelle au carré du volume des particules) augmenterait en fonction de la température, à moins d'admettre que, optiquement, les propriétés de l'eau fixée diffèrent profondément de celles de l'eau libre. On comprendrait mal d'ailleurs la nature des différences entre l'eau entourant la protéine qui ne serait plus liquide et l'eau liquide dans laquelle elle flotterait [1]: ce qui est admissible pour une couche adsorbée monomoléculaire, ou à la rigueur, bimoléculaire, ne l'est plus si la couche a 20 Ångströms d'épaisseur. Pourquoi, enfin, une élévation de température de 1° déterminerait-elle la fixation d'une nouvelle couche d'eau sur les autres et, dernière difficulté, pourquoi cette adsorption ne se produirait-elle qu'à partir d'une certaine température et pas au-dessous?

[1] L'attraction électrostatique, à laquelle on a eu recours pour expliquer ces faits n'est pas satisfaisante. On ne voit pas clairement comment cette attraction augmenterait régulièrement d'une quantité à peu près égale, pour chaque degré de température. Ce n'est pas une explication, c'est un mot.

On se rend compte que cette façon de voir est difficilement acceptable ; elle l'est aussi peu que l'hypothèse de la coagulation par agrégation de molécules entre elles qui, nous l'avons vu, est en contradiction absolue avec les observations expérimentales.

Mais on peut faire une autre hypothèse, qui bien qu'en apparence hétérodoxe est en réalité tout à fait classique et possède l'avantage d'expliquer tous les faits expérimentaux précédents. Cette hypothèse consiste simplement à admettre que l'adsorption de l'eau se produit à l'intérieur de la molécule protéique, entre les chaînes ramifiées qui constituent son échafaudage complexe.

Mais pour que les petites molécules d'eau puissent pénétrer à l'intérieur de cet échafaudage, protégé par les forces s'exerçant entre les groupes externes, il faut qu'elles disposent d'une certaine énergie balistique : là où une pierre lancée par une main humaine ne pénètre pas, une balle de fusil entrera aisément. Cette énergie balistique lui est fournie par la température, et nous comprenons aussitôt un fait jusqu'ici mystérieux, à savoir pourquoi au-dessous de 54° le sérum est pratiquement inaltérable, quelle que soit, entre certaines limites, la durée du chauffage. C'est qu'au-dessous de cette température l'énergie cinétique des molécules d'eau est insuffisante pour leur permettre de franchir la barrière qui leur est opposée par les forces périphériques de la molécule protéique. Mais aussitôt que cette énergie a dépassé un certain seuil dont la valeur est précisément déterminée par la grandeur des forces d'attraction entre les groupes périphériques et par la force de cohésion des molécules d'eau entre elles, les molécules d'eau forcent l'entrée et s'introduisent entre les ramifications atomiques. Si la température n'augmente pas au delà de ce seuil, l'énergie cinétique des molécules, qui lui est proportionnelle, reste constante ; les molécules ne peuvent pénétrer que jusqu'à une certaine profondeur, et, pour les basses températures et les températures moyennes (55° à 58°) un état d'équilibre, correspondant à une sorte de saturation, doit être atteint quand le chauffage est maintenu assez longtemps. En d'autres termes, l'accroissement du volume des particules ne doit pas être proportionnel au temps de chauffage, mais doit tendre vers une valeur constante : les courbes exprimant le phénomène devraient présenter une convexité tournée vers l'axe des y (volumes) et prendre ensuite une allure asymptotique pour des chauffages prolongés :

d'autre part, pour les hautes températures, à partir de 60°, la tendance de la courbe à atteindre un plateau doit diminuer par suite de la déformation subie et de l'affaiblissement des forces moléculaires périphériques pour disparaître aux plus hautes températures : c'est exactement ce que l'expérience nous révèle (fig. 34).

Si, par contre, à temps de chauffage égal, la température augmente, l'énergie cinétique des molécules d'eau s'accroît, elles pénètrent plus profondément à l'intérieur de la structure, et elles y pénètrent en plus grand nombre : le nombre devrait être fonction directe de leur force de pénétration, et la courbe représentant l'accroissement du volume des molécules protéiques en fonction de la température devrait être sensiblement une droite. C'est également ce que l'expérience nous révèle (fig. 45 à 49). Comme le nombre de molécules d'eau qui frappent la molécule protéique augmente proportionnellement à la température, l'accroissement du volume de cette dernière est fonction linéaire de la température, ce qui est une conséquence directe de l'observation précédente. Cette hypothèse permet donc d'expliquer la stabilité du sérum jusqu'à 55° environ, et son comportement ultérieur, jusqu'à la coagulation complète. A elle seule, elle ne suffirait pas à expliquer l'irréversibilité de ces phénomènes. En effet, la température étant un phénomène statistique, il existe même aux températures inférieures à 55°, des molécules d'eau douées d'une énergie cinétique suffisante pour leur permettre de pénétrer dans la molécule de sérum. Si les phénomènes étaient réversibles on comprendrait qu'un équilibre puisse s'établir. Mais à partir de 55° ou aux environs de cette température, les molécules d'eau sont fixées irréversiblement. D'ailleurs les phénomènes que nous mesurons sont également statistiques, et le temps de chauffage joue un rôle également, mais très faible : quatre heures de chauffage à 50° déterminent une légère augmentation du pouvoir rotatoire, par exemple ; il est donc nécessaire d'admettre que le fait de porter les protéines à une température voisine de 55° détermine de légers changements structuraux, chimiques, tels que les molécules d'eau ayant pénétré à l'intérieur soient définitivement, chimiquement fixées, ce qui expliquerait le seuil de 55° et l'irréversibilité. Cette hypothèse est d'accord avec le fait que les courbes exprimant la viscosité en fonction de la température montrent que

le phénomène est réversible tant que le chauffage n'a pas été porté au delà de 55°.

Tout se passant, en somme, comme si la molécule de sérum s'hydratait par l'intérieur beaucoup plus que par l'extérieur, et gonflait à la manière d'un cube de gélatine, toutes les transformations que nous avons signalées dans ses propriétés optiques deviennent compréhensibles : l'accroissement continu du pouvoir rotatoire et du facteur de dépolarisation en particulier. Nous avons montré, en effet ([1]), que la vitesse d'accroissement du pouvoir rotatoire en fonction de la température (quantité dont l'angle de rotation était augmenté par minute, pour des chauffages de l'ordre de cinq minutes) était fonction sensiblement linéaire de la température, ce qui s'explique très bien si l'on admet que sous l'influence du bombardement et de l'envahissement des molécules d'eau, les chaînes, les ramifications de la protéine s'écartent peu à peu, progressivement, modifiant par là même, la symétrie qui existait préalablement. Cette modification très régulière se manifeste par l'accroissement continu du pouvoir rotatoire, proportionnellement à la température. La place relative des groupes chimiques varie dans l'espace, au fur et à mesure du gonflement, comme s'ils étaient fixés sur une spirale dont on accroîtrait, en même temps, la longueur et le diamètre sans modifier nécessairement la longueur de la chaîne ou des chaînes principales. Quelques spires d'un ressort à boudin en fil très élastique permettent de se faire une idée de ces déformations. Il est probable d'ailleurs que la fixation d'eau sur certains groupes internes contribuent également à modifier le pouvoir rotatoire.

La continuité de ce phénomène de rotation du plan de polarisation, et d'ailleurs le phénomène lui-même, seraient également impossibles à expliquer si l'on admettait que la coagulation fut due à une agrégation micellaire. Seule, l'hypothèse de dispersion moléculaire dans le sérum, c'est-à-dire le concept de solution vraie, maintenue jusqu'à la coagulation, permet de se rendre compte des faits observés.

L'augmentation rapide de l'anisotropie optique, révélée par l'accroissement considérable de la valeur du facteur de dépolari-

([1]) Voir page 58.

sation, s'explique ainsi simplement par le déplacement relatif, dans l'espace, des groupements atomiques, et l'envahissement des molécules d'eau.

Au point de vue biologique, on comprend bien que l'éloignement progressif des groupes puisse modifier totalement les propriétés chimiques du sérum. Et l'on doit en conclure que, très probablement, le pouvoir complémentaire dépend des groupes superficiels de certaines molécules, facilement déplacés et peut-être dissociés, par des chocs violents, tandis que la « sensibilisatrice », propriété spécifique de la molécule, dépendant de groupes chimiques plus petits et plus stables, n'est atteinte que dans le cas où les molécules d'eau peuvent pénétrer assez profondément pour altérer définitivement l'architecture moléculaire de ces groupes ou simplement pour détruire les liaisons qui les unissent à l'ensemble.

Les courbes exprimant les valeurs de ρ montrent bien que c'est entre 62° et 66° que les plus profondes modifications de symétrie doivent se produire.

La polarimétrie est une méthode plus sensible que celle exposée dans ce chapitre et montre que, pour des chauffages de l'ordre de soixante minutes, le phénomène débute vers 50° [1]. Cependant, en raison même de la sensibilité de cette méthode, il se pourrait que ces changements de symétrie à basse température fussent dus à des altérations locales atomiques et non pas à la pénétration des molécules d'eau ; c'est-à-dire qu'ils révèleraient les phénomènes de déplacement périphériques n'ayant que peu d'influence sur le volume de molécule [2].

Nous avions pensé qu'il devait être possible de mettre en évidence un changement de structure des molécules du sérum (augmentation d'un diamètre par rapport aux autres) par des mesures de biréfringence magnétique. Les expériences eussent apporté un

(1) Voir page 59.

(2) C'est intentionnellement que nous avons évité de parler de l'action des électrolytes. En effet, nous étudions un complexe relativement stable, le sérum, possédant des propriétés particulières et à peu près constantes à condition de ne le pas maltraiter. Ceci élimine toute une série d'expériences dont le résultat immédiat serait la destruction du sérum en tant que système en équilibre. Néanmoins, nous nous sommes proposé d'essayer par des méthodes physiques, de nous rendre compte du comportement et du rôle des électrolytes et ce travail fera l'objet d'un autre chapitre.

argument en faveur du fait que l'accroissement du facteur de dépolarisation était dû à un changement de forme de la molécule. Dans ce but, nous avons eu recours à l'extrême obligeance de M. le professeur Cotton qui a bien voulu mettre à notre disposition le grand électro-aimant de l'Académie des Sciences à Bellevue, et a effectué lui-même les expériences avec nous. Nous avons soumis à un champ magnétique de l'ordre de 50.000 gauss (intensité du courant : 400 ampères) trois échantillons de sérum : normal, chauffé à 58° et à 64° pendant dix minutes. Aucune trace de biréfringence ne fut observée. Ceci semble démontrer que la symétrie géométrique de la molécule n'est pas modifiée de façon mesurable par le chauffage. L'accroissement considérable dans la valeur de ρ ne peut donc être dû uniquement à l'augmentation de volume, nous l'avons démontré précédemment, ni selon toute probabilité, à un changement de forme. Elle ne peut donc être déterminée que par une modification importante de l'anisotropie optique des molécules, conséquence forcée des déplacements relatifs des groupes d'atomes dus à l'expansion par hydratation.

Nous pouvons tirer une autre conclusion des pages précédentes et des expériences décrites dans le présent chapitre. Si nous nous reportons aux travaux de Mie, nous y voyons que la quantité de lumière dépolarisée atteint 10 % quand les particules sont de l'ordre de 130 mμ. Or, nous avons observé régulièrement des valeurs de ρ variant de 50 à 70 % et davantage, et néanmoins nos particules n'atteignent très probablement que des longueurs de l'ordre de 100×10^{-8} centimètres, soit 10 mμ. Nous sommes encore plus de 10 fois au-dessous des valeurs données par Mie. Il ressort donc de nouveau, dans ce cas particulier, un argument en faveur du changement dans la symétrie structurale et dans l'anisotropie optique des molécules protéiques par suite de l'hydratation, car si l'accroissement se produisait uniquement par la périphérie, il serait symétrique.

Nous sommes donc conduits à admettre que l'effet de l'élévation de la température se manifeste principalement par une pénétration, un bombardement de molécules d'eau à l'intérieur même des molécules de sérum, dont les conséquences sont l'accroissement du volume de celles-ci par suite du dépliement des chaînes internes qui normalement existent probablement sous forme de spirales en raison de l'écartement à 109° l'une de l'autre

des valences du carbone. Cette hypothèse n'est pas en contradiction avec la théorie de Debye Hückel (périsphère d'eau adsorbée) car cette théorie n'est valable que pour des molécules assimilables à des sphères et à charge électrique ponctuelle. Or, ni l'une ni l'autre de ces conditions n'est applicable aux molécules protidiques qui sont asymétriques, anisotropes, et composées d'amino-acides échafaudés les uns sur les autres.

Cette hypothèse de coagulation par hydratation intramoléculaire peut être soumise à une épreuve cruciale, que nous avions conçue avant qu'elle fût rendue possible par les belles inventions de M. James Basset. Cette épreuve est la suivante. Nous avons dit plus haut que le seuil de 55° était conditionné par les forces périmoléculaires et par l'attraction mutuelle ou force de cohésion des molécules d'eau entre elles (1). Or, le Pr. Macheboeuf et M. Sandor, utilisant les pompes à ultra-pressions de M. Basset, qui permettent d'atteindre la pression réellement formidable de 24.000 atmosphères (2) a soumis du sérum à des pressions variant entre 1.000 et 13.000 atmosphères, et vers 11.000 atmosphères, ils eurent la surprise de constater que le sérum était coagulé (3). Il semble, à première vue, que notre hypothèse puisse seule, dans l'état actuel de la question, expliquer ce phénomène curieux. Il est bien clair que le mécanisme de l'hydratation par choc (par suite de l'élévation de température) n'est pas le même que celui de l'hydratation par pression. Dans le premier cas c'est la force vive des molécules d'eau qui intervient, dans le second — la force vive moyenne étant constante — c'est uniquement la quantité de mouvement. Néanmoins, le résultat est le même quand on atteint les ultra-pressions qui sont de l'ordre de la cohésion des molécules d'eau (11.000 atmosphères) (1).

(1) Voir Willows and Hatschek, *Surface tension and surface energy*, Londres, Churchill, 1923, p. 13.

(2) La pression, à l'intérieur d'un canon de 305 au moment de l'explosion, est de l'ordre de 4.500 atmosphères.

(3) Basset, Macheboeuf et Sandor, *C. R. Ac. Sc.*, **197**, 796, (1933).

NOTE SUR LES DÉFINITIONS ET LES SYMBOLES UTILISÉS DANS CE CHAPITRE

Lumière dépolarisée. Il existe entre les termes employés une contradiction *apparente* qu'il est facile d'éclaircir. Le flux total diffusé F_T comprend :

1° Un flux F_n de lumière naturelle ;

2° Un flux F_v de lumière polarisée à vibrations verticales.

De sorte que $F_T = F_n + F_v$. Après traversée du nicol éteignant les vibrations verticales, ce flux deviendra f_H polarisé à vibrations horizontales. soit $f_H = \frac{F_n}{2}$, en négligeant les pertes par réflexion dues au nicol.

Après traversée du nicol arrêtant les vibrations horizontales le flux deviendra f_v, polarisé à vibrations verticales : $f_v = \frac{F_n}{2} + F_v = f_n + F_v$.
Le flux F_n de lumière dépolarisée vaut donc le double du flux f_H transmis par le nicol à vibrations horizontales.

Quand nous définissons le facteur de dépolarisation par le rapport : $\frac{I_H}{I_v}$, nous entendons en réalité parler du rapport $\frac{f_H}{f_v}$.

D'ailleurs, dans toutes les mesures effectuées au moyen du photomètre V.B.Y. les notions qui interviennent sont celles de flux lumineux, de brillance et d'éclairement, mais non pas celles d'intensité entendues au sens strict. Si nous nous en sommes tenus aux symboles I_0 et I c'est parce que cet ouvrage est destiné surtout aux biologistes et aux biochimistes et qu'il nous a semblé plus simple de ne pas changer les symboles auxquels ils sont accoutumés. Il suffit que le lecteur soit prévenu de ce fait pour qu'aucune confusion ne s'établisse.

De même, page 97, nous faisons appel à la notion de valeur absolue du rapport $\frac{I_0}{I}$. Il serait évidemment plus correct de parler de la valeur absolue du rapport $\frac{b \text{ (brillance du diffusant X)}}{E \text{ (éclairement, exprimé en lux)}} = B$ en bougies par mètre carré (voir fig. 37). Car en substituant à X un diffusant parfait (couche de magnésie par exemple), le diffusant parfait prend sous un éclairement E une brillance B telle que $B = \frac{E}{\pi}$. Le photomètre permettant de mesurer $\frac{b}{B}$, on en déduit $\frac{b}{E}$.

CHAPITRE VII

Equilibres ioniques du sérum en fonction de la température-I

Tous les faits rapportés jusqu'ici ont été étudiés sans tenir compte des phénomènes ioniques corrélatifs qui jouent probablement un rôle important. C'est intentionnellement que nous les avons laissés de côté afin de simplifier arbitrairement les problèmes et d'obtenir une vue d'ensemble et une idée générale de l'évolution des phénomènes physiques et physico-chimiques consécutifs au chauffage.

Le but des nouvelles expériences que nous allons décrire est d'exposer les résultats expérimentaux préliminaires obtenus en étudiant les phénomènes ioniques en eux-mêmes, de la façon la plus simple possible.

Précipitation des globulines par addition d'eau [1]

Sérum non chauffé. — On sait depuis longtemps que la stabilité de certains éléments protéiques du sérum (globulines) dépend, entre autres facteurs, de la concentration des sels. Quand on dilue du sérum au moyen d'eau distillée, il se produit un trouble, suivi généralement de la précipitation d'une partie des globulines. Rien de semblable n'est observé quand la dilution est obtenue au moyen de solution physiologique isotonique à 9 °/₀₀. La diminution de concentration des sels entraîne donc une diminution de la solubilité des globulines si l'on admet leur existence

[1] Lecomte du Noüy, *Ann. Inst. Pasteur*, **48**, p. 187, 1932.

dans le sérum à l'état libre, ou une séparation de la molécule de sérum si l'on admet qu'elles sont normalement combinées.

On peut donc envisager deux mécanismes possibles de ce phénomène: ou bien il s'agit véritablement d'une insolubilisation, qui peut être due à un changement dans l'ionisation des chlorures de globulines et autres sels de globulines existant librement en solution, ou bien il s'agit simplement de la séparation de la molécule complexe de sérum en deux éléments : albumine soluble d'un côté, globuline insoluble de l'autre. Le seul fait de séparer ces deux molécules entraînerait la précipitation de celle qui, étant *normalement insoluble*, empruntait son apparente solubilité au fait de son accolement — de quelque nature qu'il soit — à une autre substance (albumine), moléculairement dispersée. Cette question sera étudiée postérieurement. Nous nous proposons simplement ici de donner les résultats expérimentaux obtenus en suivant quantitativement le phénomène de précipitation consécutif à l'addition d'eau distillée, dans le sérum normal non chauffé et chauffé.

TABLEAU XXVII

Lumière diffusée par un sérum de cheval normal après addition d'eau distillée

Nombre de centimètres cubes d'eau ajoutés à 1 cent. cube de sérum	Concentration relative en sels p. 100	Lectures : log $\frac{I_0}{I}$	
		Après 1 heure	Après 4 heures
Sérum pur. . . .	1	2,18	2,23
+ 1	0,50	2,12	2,11
2	0,33	2,06	2,08
3	0,25	1,54	1,50
4	0,20	1,30	1,30
5	0,168	1,17	1,21
6	0,143	1,15	1,16
7	0,125	1,12	1,14
8	0,115	1,12	1,14
9	0,100	1,13	1,15
10	0,091	1,15	1,17
11	0,083	1,17	1,19

La méthode que nous avons employée possède l'avantage

d'être très rapide, et d'une précision au moins aussi grande que la méthode des pesées, en raison du nombre considérable de causes d'erreurs dues aux nombreuses manipulations que nécessite cette dernière. Nous avons simplement mesuré la quantité

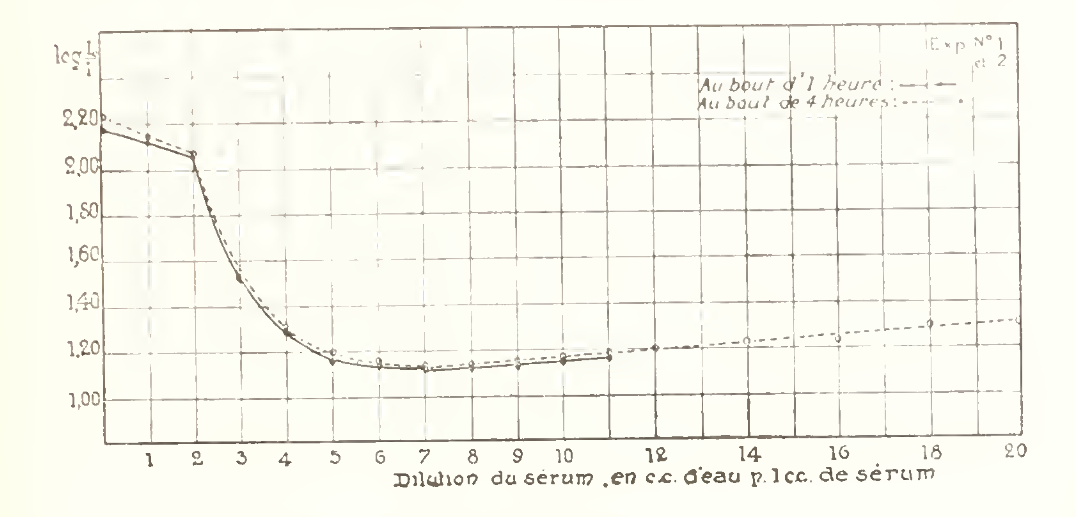


Fig. 50. — Lumière diffusée latéralement par un sérum de cheval normal après addition de quantités variables d'eau distillée. Les chiffres indiquant les valeurs de log $\frac{I_0}{I}$ diminuent quand la lumière diffusée augmente, c'est-à-dire quand la solution devient de plus en plus trouble.

de lumière diffusée à angle droit par la solution au moyen de l'appareil précédemment décrit [1] en employant pour monochromatiser la lumière un filtre bleu de Wratten n° 45 H, qui laisse passer une longueur d'onde dominante de 4.800 Ångströms. Les chiffres obtenus expriment la valeur de log $\frac{I_0}{I}$ c'est-à-dire le rap-

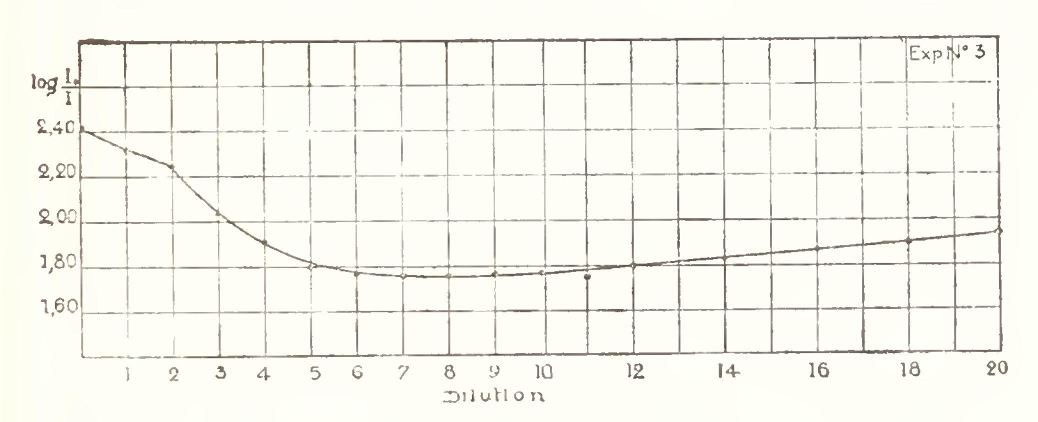


Fig. 51. — Même expérience que celle représentée par la figure 50. Sérum différent. Le phénomène est moins net.

[1] Voir page 91.

port de l'intensité de la lumière incidente à celle de la lumière diffusée. On sait que cette valeur est proportionnelle au nombre de particules diffusantes (lorsque celles-ci sont très petites) et au carré de leur volume (en admettant que leur forme ne s'écarte

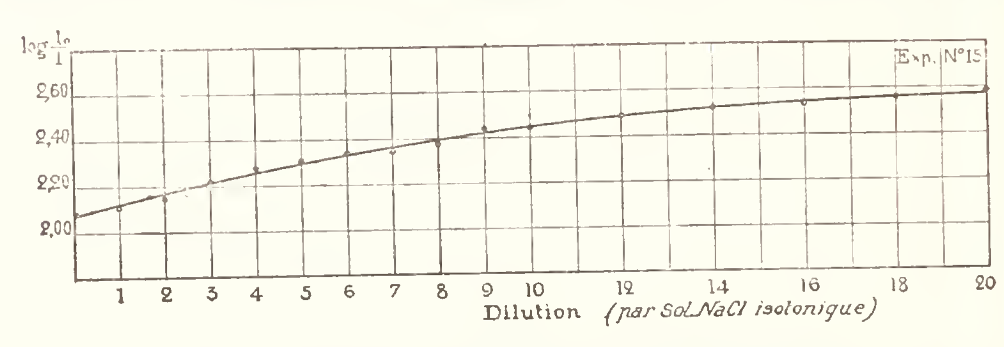


Fig. 52. — Lumière diffusée latéralement par un sérum de cheval normal ; après addition de quantités variables de solution physiologique. La lumière diffusée diminue avec la dilution.

pas beaucoup de celle d'une sphère). Le tableau XXVII exprime les résultats d'une série de mesures, et représente l'allure générale du phénomène (fig. 50 et 51).

Les mesures furent exécutées une heure et quatre heures après la préparation des solutions, celles-ci étant agitées de façon à présenter un aspect homogène. De 0 (sérum pur) à 200 % (1 cent. cube de sérum + 2 cent. cubes d'eau), la quantité de lumière diffusée augmente peu et reste sensiblement proportionnelle à la dilution. A partir de 200 %, une augmentation brusque se produit, très nette sur les courbes qui prennent une allure logarithmique. La figue 52 montre, par comparaison, l'allure de la courbe quand le sérum est dilué avec de la solution physiologique au lieu d'eau distillée. On constate que log $\frac{I_0}{I}$ augmente, c'est-à-dire que I, la lumière diffusée, diminue.

Vers 500 % (5 cent. cubes d'eau + 1 cent. cube de sérum) un plateau est presque atteint. Ce plateau se continue jusqu'aux environ de 900 %, et à ce moment-là seulement la lumière diffusée commence à diminuer. (Les chiffres du tableau exprimant log $\frac{I_0}{I}$ sont inversement proportionnels à l'intensité de la lumière diffusée, ce qui explique qu'ils diminuent d'abord pour augmenter ensuite). Pour une addition de 5 cent. cubes d'eau à 1 cent. cube de sérum, la lumière diffusée peut augmenter dans la proportion de 1 à 13.

Il est évident que le phénomène n'est aussi clair qu'en raison de la haute teneur du sérum de cheval en globulines insolubles. Les traités de physiologie et de biochimie indiquent en effet les quantités de globuline moyennes suivantes pour différents sérums.

Cheval	4,3 %
Bœuf	3,5 %
Mouton	2,3 %
Porc	1,8 %
Lapin.	2,0 %

La courbe obtenue pour le sérum de bœuf est très analogue à celle du cheval, mais on n'observe pas la cassure correspondant à la dilution au tiers des sels initiaux qui caractérise la courbe du sérum de cheval. Quant aux autres animaux dont le sérum est pauvre en globulines (environ la moitié du sérum de cheval), ils fournissent une courbe tout à fait différente, à convexité tournée vers le haut très voisine de celle obtenue en diluant le sérum avec de la solution isotonique à 0,9 %. La figure 53 donne les résultats obtenus avec du sérum de mouton.

Il est à remarquer que le phénomène semble d'autant plus net que le cheval a été soumis à des saignées plus fréquentes. Tout se passe en somme comme si les saignées répétées avaient pour effet l'augmentation des éléments insolubles du sérum.

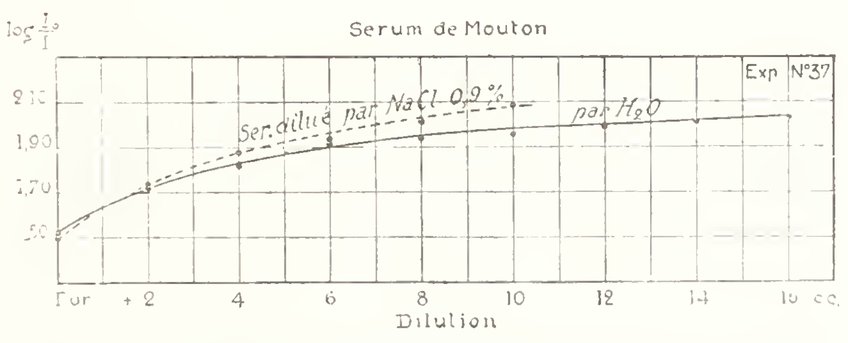


Fig. 53. — Expérience semblable à celles des figures 50, 51, 52, mais avec du sérum de mouton à faible teneur en globulines

Action de la température

Lorsque le sérum de cheval est chauffé pendant dix minutes à différentes températures, l'allure des courbes exprimant la précipitation des globulines est modifiée. Les figures 54 et 55 montrent que la quantité de lumière diffusée, c'est-à-dire le nom-

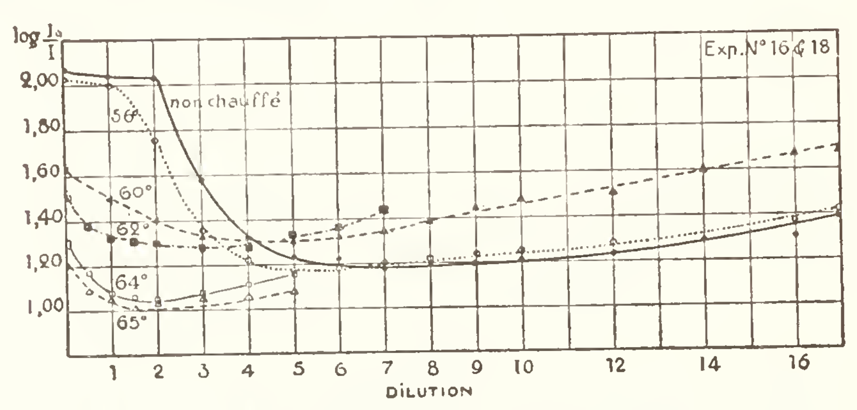


Fig. 54. — Lumière diffusée par du sérum de cheval normal non chauffé (trait plein) et chauffé, en fonction de la dilution par de l'eau distillée. Les chiffres des abscisses expriment le nombre de centimètres cubes d'eau ajoutés à 1 cent. cube de sérum. Temps de chauffage : dix minutes.

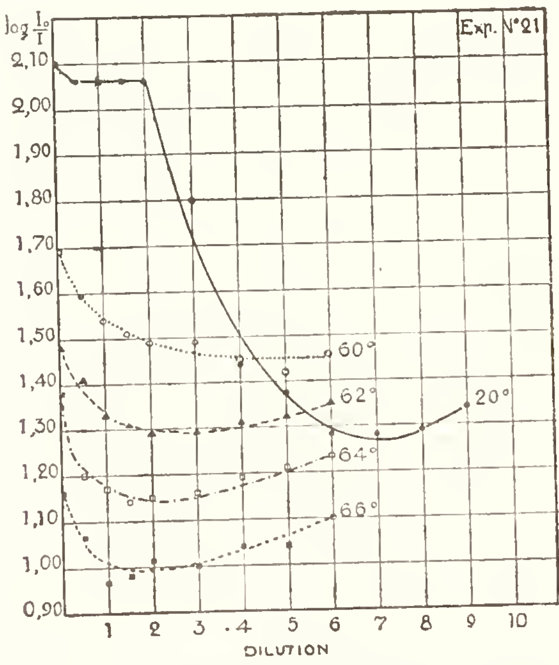


Fig. 55. — Même expérience que les nos 16 et 18 (fig. 54). L'échelle des ordonnées a été modifiée pour la clarté des courbes (chauffage : dix minutes).

bre, ou le volume (ou les deux) des particules diffusantes, est augmenté. En plus par suite du déséquilibre introduit dans la solution, déséquilibre suivi d'insolubilisation ou de séparation d'éléments, l'indice de réfraction des particules passant de l'état de molécules en solution à l'état de particules en suspension, varie. Donc le facteur entre parenthèses $\left(\frac{n_1^2 - n^2}{n_1^2 + 2n^2}\right)^2$ dont nous avons pu ne pas tenir compte au chapitre précédent entre en jeu et empêche de calculer les valeurs de $\frac{dV_1}{dV}$.

Tableau XXVIII. — *Lumière diffusée par un sérum de cheval chauffé dix minutes après addition d'eau distillée*

Nombre de centimètres cubes d'eau ajoutés	Lectures : $\log \frac{I_0}{I}$			
	Sérum non chauffé	Chauffé à 56°	Chauffé à 60°	Chauffé à 64°
0	1,98	1,96	1,72	1,19
0,5	1,98	1,96	1,62	1,09
1.	1,99	1,92	1,59	1,05
1,5	1,98	1,84	1,54	1,00
2.	1,95	1,68	1,53	1,03
3.	1,63	1,56	1,39	1,05
4.	1,33	1,47	1,32	1,04
5.	1,25	1,40	1,31	1,07

A chaque température correspond une dilution optima pour laquelle la quantité de lumière diffusée latéralement est maxima. Ce maximum peut être dû à l'augentation de volume, à l'accroissement du nombre des particules diffusantes par suite de désagrégation, et à l'augmentation de l'indice de réfraction des particules diffusantes insolubilisées comme nous l'avons dit plus haut. Il ressort clairement des courbes que plus la température est élevée, moins le sérum doit être dilué pour obtenir le maximum de précipitation : pour le sérum particulier de l'expérience représentée par la figure 54, ce maximum est obtenu à la dilution de 700 % dans le sérum non chauffé, et de 150 % dans le sérum chauffé à 65°. Ou bien l'insolubilité des globulines augmente, ou bien le complexe albumine-globuline devient plus fragile. Le déplacement du maximum (qui correspond à un minimum sur les figures en raison des mesures qui expriment, rappe-

tous-le, la valeur de log $\frac{I_0}{I}$) commence vers 50°. Mais la figure 56 montre que l'allure générale des courbes n'est modifiée profondément qu'au-dessus de 57° dans le sérum étudié. La figure 57 donne l'aspect général du phénomène de déplacement, c'est-à-dire, pour chaque température, la dilution à laquelle correspond le maximum de lumière diffusée pour un sérum de cheval donné, chauffé préalablement à la dilution.

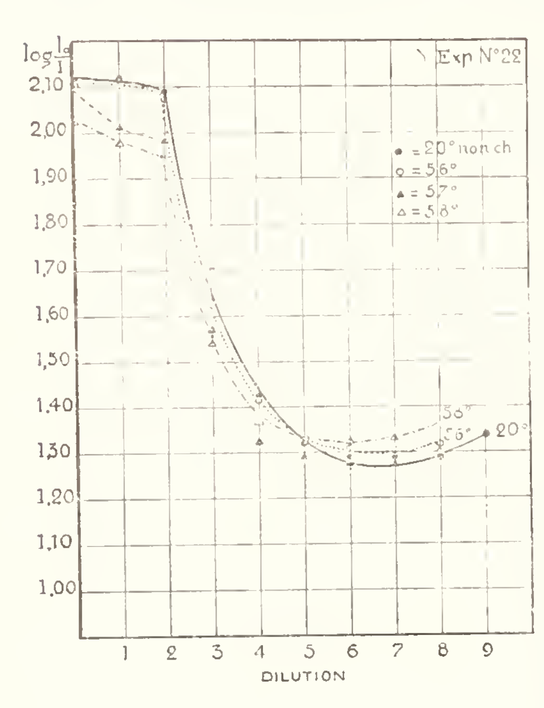


Fig. 56. — Même expérience que le n° 21, mais pour des chauffages ne dépassant pas 58° (chauffage : dix minutes). On voit que pour ce sérum, le même que celui de l'expérience n° 21, l'action de la chaleur est faible jusqu'à 56°, elle ne se manifeste de façon importante qu'à partir de 58° (voir fig. 55).

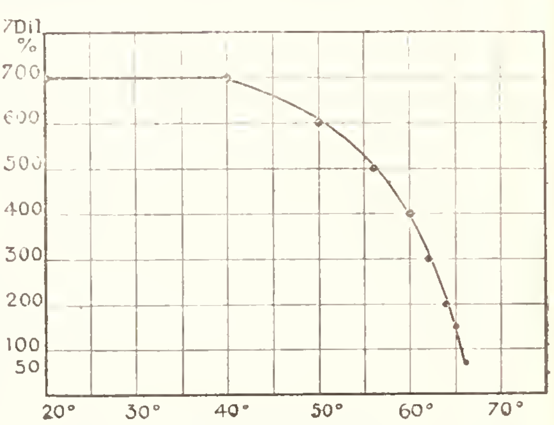


Fig. 57. — Courbe exprimant, en fonction de la température, le déplacement des minima des courbes semblables à celles des figures 54, 55, 56. Sur ces figures, on voit que les courbes correspondant à une température déterminée descendent, puis remontent. Le point minimum (qui correspond à un *maximum* de lumière diffusée) change pour chaque courbe et correspond à une dilution déterminée. Ce sont ces déplacements, toujours dans le même sens quand la température s'élève, que la présente courbe exprime, pour un sérum de cheval donné. On voit que la lumière diffusée est maximum pour une dilution de 400 p. 100, quand le sérum a été chauffé à 60° pendant dix minutes, tandis que ce maximum a lieu à 700 p. 100 pour un sérum chauffé à 40°.

Redissolution du précipité

Le précipité de globulines est redissous, en général complètement, par addition de NaCl. Quand le sérum (cheval normal) a été dilué de cinq fois son volume d'eau distillée, il suffit

de ramener la concentration en sels entre 30 et 40 % de la valeur initiale, par NaCl, pour entraîner la dissolution presque totale. On observe ensuite un plateau (fig. 58) plus ou moins horizontal, et la dissolution est sensiblement complète (les lectures

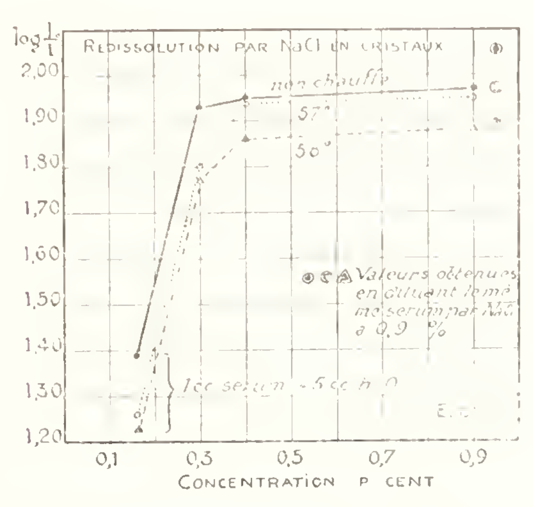


Fig. 58. — Redissolution du précipité de globulines par addition de NaCl en cristaux. On voit que la redissolution est presque complète dès que la concentration des sels atteint environ 0,4 p. 100.

au photomètre remontent à leur valeur primitive) à 100 %. Quand le sérum dilué a été légèrement acidifié (0 cc. 1 à 0 cc. 3 d'une solution HCl $\frac{N}{10}$) pour déterminer une précipitation plus abondante, les quantités intermédiaires de NaCl sont moins efficaces, mais quand on atteint 100 % la dissolution est pratiquement complète également. Quand on ajoute NaCl sous forme d'une solution à 1 %, on dilue les protéines en augmentant la concentration du sel. On obtient alors les courbes de la figure 59 qui montrent que la redissolution est toujours presque complète quand le taux de 30 % environ est rétabli. Dans cette expérience, la redissolution était produite par des quantités différentes (1, 2 et 3 cent. cubes) d'une solution de NaCl à 1 %. Les points d'incurvation A, B, C, des courbes, (qui correspondent à la limite de la redissolution pratiquement totale), se trouvent aux concentrations 33, 30 et 28 % de la concentration normale des

sels. Pour ce sérum (cheval normal), cette valeur est donc critique, comme le montraient les figures 50 et 51.

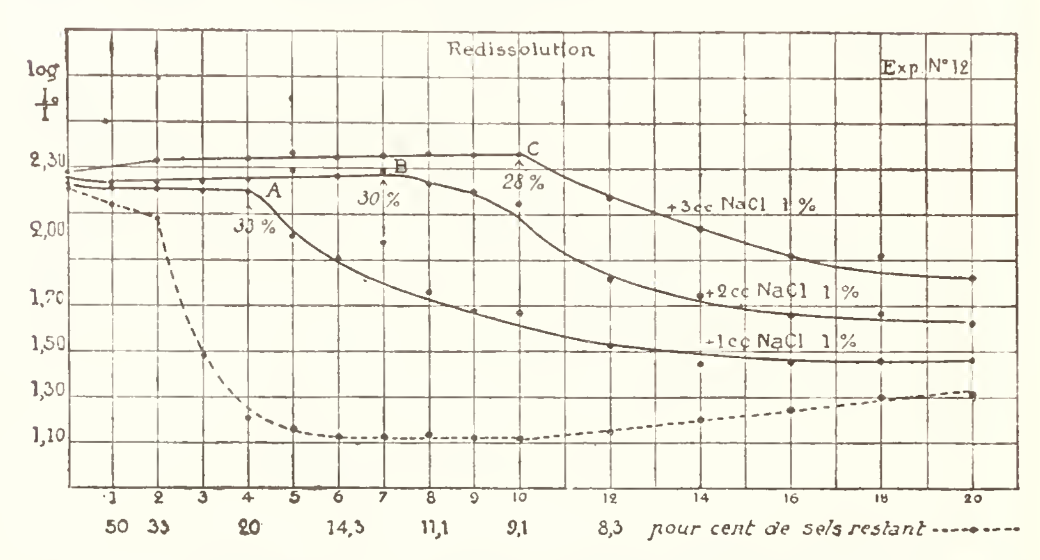


FIG. 59. — Redissolution du précipité de globulines par addition de NaCl en solution à 1 p. 100. Aux environs de 30 p. 100, la dissolution est presque complète et n'augmente guère par accroissement de la concentration.

VITESSE DE SÉDIMENTATION DES GLOBULINES

Il existe une différence d'aspect nette entre les précipités de globuline formés lors de l'addition d'eau, suivant les températures auxquelles le sérum a été porté préalablement. Pour remplacer une description forcément imprécise et subjective du phénomène par des mesures quantitatives, nous avons mesuré la vitesse de sédimentation du précipité en appliquant la même méthode que précédemment, c'est-à-dire en mesurant l'intensité relative de la lumière diffusée à angle droit par la solution. Les lectures, correspondant encore aux valeurs de log $\frac{I_0}{I}$ furent faites de cinq en cinq minutes pendant trois heures ou davantage. Le tableau ci-dessous (XXIX) exprime les résultats d'une série de mesures exécutées sur un sérum frais de cheval normal dilué de cinq fois son volume d'eau distillée, de réaction légèrement acide.

Cette dilution, nous l'avons établi dans nos expériences précédentes, correspond à peu près à un plateau dans la courbe représentant log $\frac{I_0}{I}$ (voir fig. 50 et 51). Dans ce tableau, les chiffres

Tableau XXIX. — *Exp. n° 16*

Temps	Lectures : log $\frac{I_0}{I}$			
	Non chauffé	Chauffé pendant 10 minutes à		
		56°	57°	58°
0 minute . . .	1,33	1,31	1,26	1,25
5 minutes . .	1,33	1,32	1,25	1,25
10 minutes . .	1,31	1,32	1,25	1,24
15 minutes . .	1,34	1,33	1,25	1,24
20 minutes . .	1,34	1,32	1,25	1,24
25 minutes . .	1,35	1,32	1,24	1,24
30 minutes . .	1,66	1,33	1,24	1,24
35 minutes . .	1,73	1,28	1,23	1,25
40 minutes . .	1,86	1,32	1,14	1,24
45 minutes . .	1,91	1,72	1,13	1,24
50 minutes . .	1,95	1,82	1,55	1,25
60 minutes . .	1,97	1,93	1,66	1,25
75 minutes . .	2,01	2,03	1,77	1,25
90 minutes . .	2,10	2,03	1,80	1,26
105 minutes . .	2,15	2,03	1,85	1,26
2 heures . . .	2,21	2,03		1,27
3 heures . . .				1,29
5 heures . . .			2,05	
7 heures . . .			2,15	
18 heures . . .	2,42	2,31		1,45

indiquent les valeurs de log $\frac{I_0}{I}$ (tableau XXIX, exp. n° 16, et fig. 60 et 61, exp. n°s 26 et 38).

On remarquera que les sérums chauffés à 56° et à 57° (puis refroidis) présentent une légère diminution de log $\frac{I_0}{I}$ qui correspond à une *augmentation* momentanée de la lumière diffusée, au bout de trente-cinq minutes dans le premier cas, et de quarante minutes dans le second. Cet accroissement est suivi d'une *diminution* brusque de la lumière qui se poursuit suivant une courbe régulière, sensiblement parallèle à celle du sérum non chauffé. Ce phénomène exprime simplement l'éclaircissement progressif de la solution au fur et à mesure que les globulines précipitées se sédimentent dans la cuve. Mais le fait important et très significatif est que rien de semblable ne se produit dans le sérum chauffé à 58°. En d'autres termes, dans ce dernier sérum, *il n'y a pas de sédimentation*, la suspension des glo-

bulines est stable. Ce n'est qu'à la dix-huitième heure qu'on observe un début marqué d'éclaircissement. Quand le sérum a été chauffé à 60°, 62° et 64° on n'observe aucun éclaircissement au bout de dix-huit et même vingt heures. Dans le sérum frais,

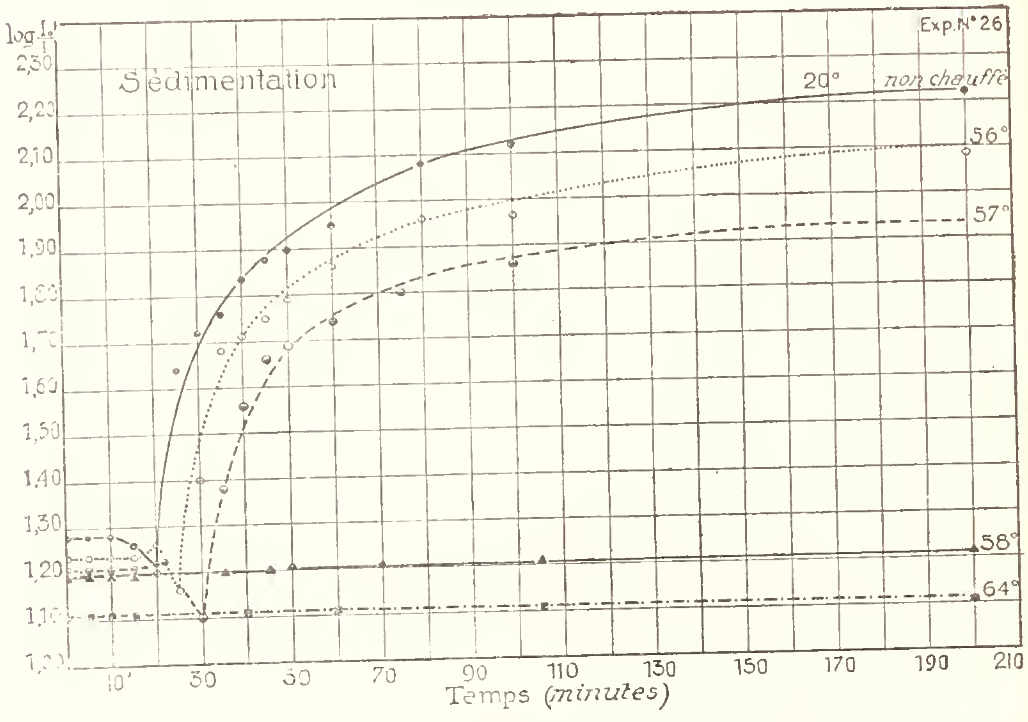


Fig. 60. — Sédimentation des globulines. Les courbes expriment l'éclaircissement progressif de la solution de sérum. On voit que le sérum chauffé jusqu'à 57° pendant dix minutes s'éclaircit, c'est-à-dire que les globulines se sédimentent, tandis qu'à partir de 58° la solution, d'aspect opalin, est stable.

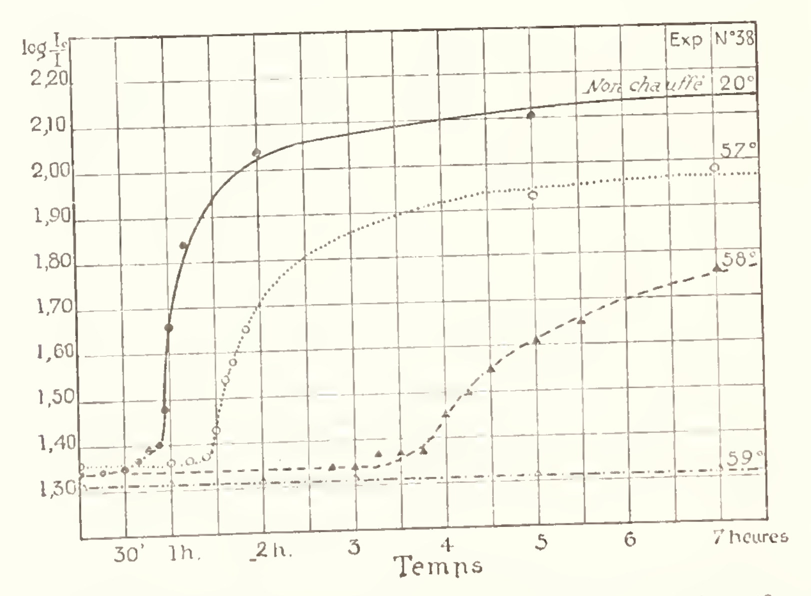


Fig. 61. — Même expérience que précédemment (n° 26 fig. 60). Avec ce sérum, le phénomène fut beaucoup plus long à se déclencher.

non chauffé ou chauffé au-dessus de 58°, la vitesse de sédimentation est considérable, puisqu'au maximum (entre la vingt-cinquième et la trentième minute pour le non-chauffé, entre la quarantième et la quarante-cinquième pour celui qui fut chauffé à 56°, et entre la quarante-cinquième et la cinquantième pour celui qui fut chauffé à 57°), le nombre de particules diffusantes est diminué de plus de moitié dans un volume donné en cinq minutes. Il ne faut pas perdre de vue, en effet, que les chiffres du tableau représentent des différences entre logarithmes. Nous ne pouvons cependant interpréter les chiffres de façon à comprendre entièrement le mécanisme du phénomène, car la formule de Rayleigh ne s'applique qu'à des particules petites par rapport à la longueur d'onde de la lumière et si nous ne savons pas encore l'ordre de grandeur de celles-ci, nous savons qu'elles sont beaucoup plus importantes.

Nous avons donc un phénomène nouveau à ajouter aux quatre que nous avons signalés précédemment (viscosité, pouvoir rotatoire, lumière diffusée, facteur de dépolarisation), qui caractérise les importantes modifications physico-chimiques accompagnant le chauffage du sérum au-dessus de 57°. Mais ce dernier nous apporte une précision intéressante, car il nous démontre qu'apparemment, ce qu'on soupçonnait déjà, ce sont les globulines qui sont le plus profondément affectées entre 57° et 58°. Cette température n'a cependant rien d'absolu : certains chevaux ont accusé le même phénomène entre 58° et 59°. D'autres entre 56° et 57°. Mais l'écart de 1° est *toujours suffisant* pour établir une différence extrêmement nette entre les courbes.

Ce phénomène que nous avons régulièrement retrouvé dans ses grandes lignes, ne se reproduit pas toujours au bout du même laps de temps. Dans certains cas, il s'est produit au bout de quatre heures. Dans un cas, dix-huit heures se sont écoulées avant que la sédimentation se produisît. Il est en général plus net quand on acidifie la solution par 0 cc. 1 de HCl $\frac{N}{10}$. La valeur du pH joue évidemment un rôle important. Mais l'acidification doit être faible, car on sait qu'en l'augmentant légèrement on détermine la redissolution du précipité.

SÉDIMENTATION EN FONCTION DE LA TEMPÉRATURE

Si l'on porte en abscisses les températures, on met également en évidence le point critique des courbes. Dans l'expérience n° 39 (fig. 62) et les expériences 41, 44 et 46 (fig. 63 et 64), la courbe supérieure correspond aux lectures faites sur le sérum chauffé et

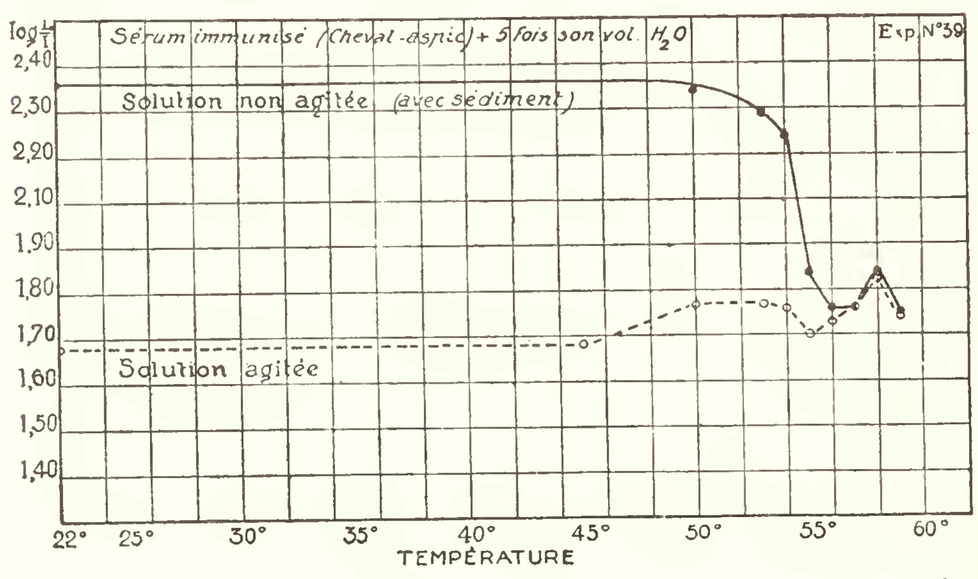


FIG. 62. — Lumière diffusée par les dilutions de sérum à 500 p. 100, en fonction de la température à laquelle le sérum a préalablement été porté pendant dix minutes. La courbe supérieure (disques noirs) représente les valeurs obtenues avec la solution non agitée, le précipité étant sédimenté au fond de la cuve ; la courbe inférieure (cercles blancs) représente au contraire les valeurs obtenues avec les mêmes solutions agitées pour remettre le précipité en suspension. A 57° les courbes se rejoignent : l'agitation ne joue plus aucun rôle, la suspension étant stable.

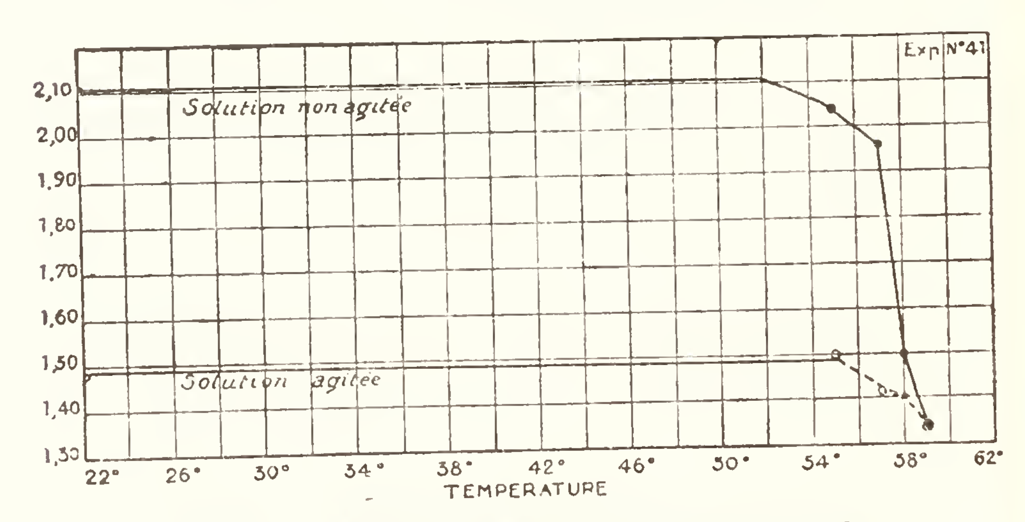


FIG. 63. — Même expérience que le n° 39 (fig. 62). Sérum différent.

dilué (toujours de cinq fois son volume d'eau), sans agitation préalable, c'est-à-dire avec le dépôt sédimenté au fond de la cuve, tandis que la courbe inférieure correspond aux mêmes solutions agitées de façon à remettre le dépôt en suspension. Vingt-quatre

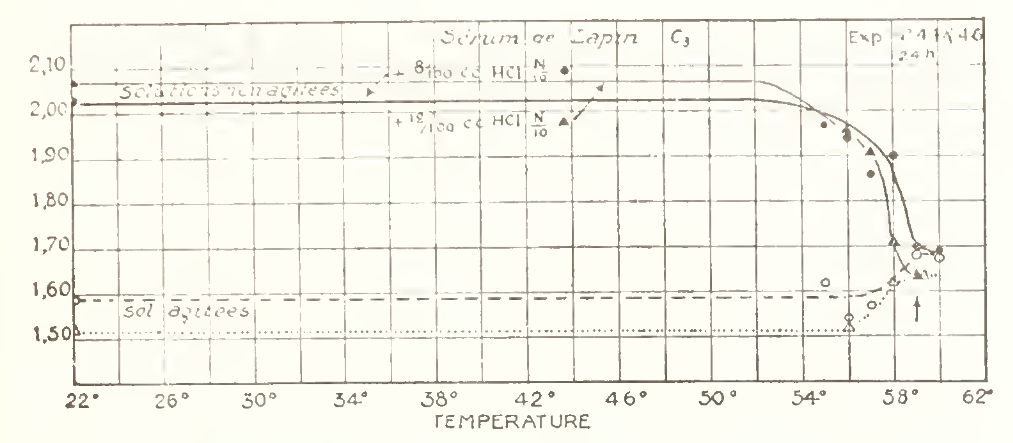


FIG. 64. — Mêmes expériences que celles des figures 62, 63, mais avec du sérum de lapin et après addition de faibles quantités d'acide.

heures après la dilution on observe que les courbes se rejoignent quand le sérum a été soumis au chauffage de dix minutes à une température de 57°, ce qui signifie qu'il ne s'est produit aucune sédimentation. Ce point correspond à la suspension stable des globulines.

Les courbes sont analogues, qu'il s'agisse de sérum de lapin (fig. 64), de mouton ou de porc. Le sérum dilué de bœuf donne, à partir de 60°, en vingt-quatre heures, un précipité très abondant qui ne sédimente pas, et qui devient de plus en plus opaque à mesure que la température augmente : à 60°, nous avons observé une valeur de log $\frac{I_0}{I}$ proche de 1,00. A 67°, elle était voisine de 2, ce qui signifie que la lumière diffusée avait décuplé pour une différence de température de 7°.

ACTION DE LA DURÉE DU CHAUFFAGE

Jusqu'ici, nous avons toujours considéré des sérums chauffés pendant dix minutes. Lorsque le chauffage est prolongé à température constante, le point qui correspond à la réunion des courbes (fig. 62, 63, 64) (*point critique de suspension stable des globulines*) est déplacé du côté des basses températures. Pour le cheval,

par exemple, en deux heures de chauffage, ce point se trouve (dans une série d'expériences) à 53° ; pour une heure de chauffage, à 54° et pour cinq minutes, à 58°. La figure 65 montre l'allure générale du phénomène de déplacement du point critique.

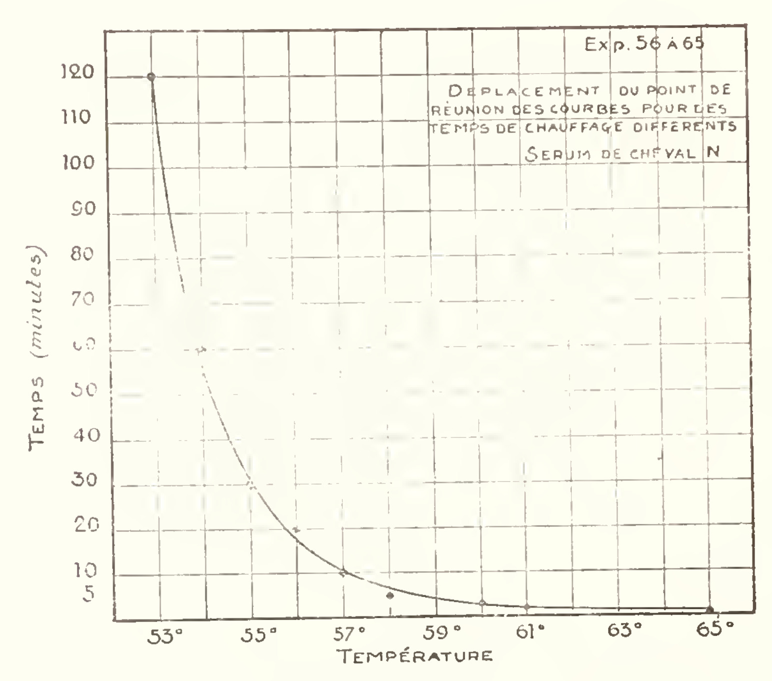


Fig. 65. — Courbe représentant pour un sérum normal de cheval, le déplacement du point de rencontre (*point critique de stabilité*) des courbes telles que celles des figures 62, 63, 64, mais pour des sérums chauffés pendant des temps différents. On voit qu'à partir de 55° l'influence du temps de chauffage est bien plus importante qu'au-dessous de 55°.

Quand on laisse le précipité pendant trois jours (au lieu de vingt-quatre heures) en contact avec la solution, il est altéré et ne se redissout pas entièrement par addition de NaCl.

*
* *

On peut essayer de se rendre compte expérimentalement si ce point critique — aux environs de 57° pour un chauffage de dix minutes — correspond à un changement d'état dans la dispersion des globulines. Il suffit pour cela d'avoir recours au facteur de dépolarisation qui a été étudié dans le précédent chapitre [1]. Je rappelle que le facteur de dépolarisation (ρ) est

[1] Voir page 93.

égal au rapport $\frac{I_H}{I_V}$ du faisceau lumineux polarisé horizontalement au faisceau polarisé verticalement, diffusés latéralement par un liquide ou une solution. ρ est toujours compris entre 0 et 1 et sa valeur est d'autant plus élevée que le faisceau diffusé contient moins de lumière polarisée verticalement. Le rapport ρ, nous l'avons vu, dépend, entre autres facteurs, de l'anisotropie optique moléculaire. Les particules ultra-microscopiques colloïdales sont généralement sphériques et isotropes, et tendent à diminuer la valeur de ρ. Un liquide qui diffuse une lumière à peu près complètement polarisée est une solution colloïdale et non un liquide homogène.

Nous avons montré que le sérum pur — et dilué par de la solution physiologique — ne se comportait nullement comme une solution colloïdale, mais au contraire comme une solution vraie, et que ρ augmentait considérablement lors du chauffage. Ceci indiquait que l'anisotropie optique des molécules augmentait par suite de l'hydratation.

Or, nous venons de voir qu'entre 57° et 58° une modification importante se produit dans le sérum chauffé, puis dilué suffisamment avec H_2O pour que les globulines précipitent. Avant 57° elles se sédimentent ; au-dessus de 58° elles restent en suspension. L'aspect de la solution est colloïdal, laiteux ; mais avons-nous vraiment affaire à une solution qui atteint, entre 58 et 60°, un état de dispersion colloïdal? ou bien cet aspect, comme dans le cas du sérum pur, correspond-il à une hydratation de molécules indépendantes?

Il suffit de jeter un coup d'œil sur la figure 66 pour se rendre compte qu'aux températures voisines de 58° correspond une chute importante du facteur de dépolarisation que l'on peut vraisemblablement attribuer à la formation de granules colloïdaux isotropes. Nous n'avons jamais, dans le cas du sérum pur ou dilué de solution saline, observé de chute semblable. Mais d'autre part, la valeur initiale du facteur ρ de la *solution* de sérum (non chauffé) est beaucoup plus haute que celle du sérum non dilué. On peut faire l'hypothèse que cette haute valeur est due aux modifications introduites dans l'anisotropie optique de la molécule par la dilution des sels.

De toutes façons, pour le sérum pur il n'y a pas diminution

mais augmentation de cette anisotropie, c'est-à-dire que la solution n'est pas colloïdale, tandis que dans le cas de sérum dilué d'eau distillée, la chute, parfois considérable de la valeur de ρ peut s'expliquer par l'agrégation momentanée des particules.

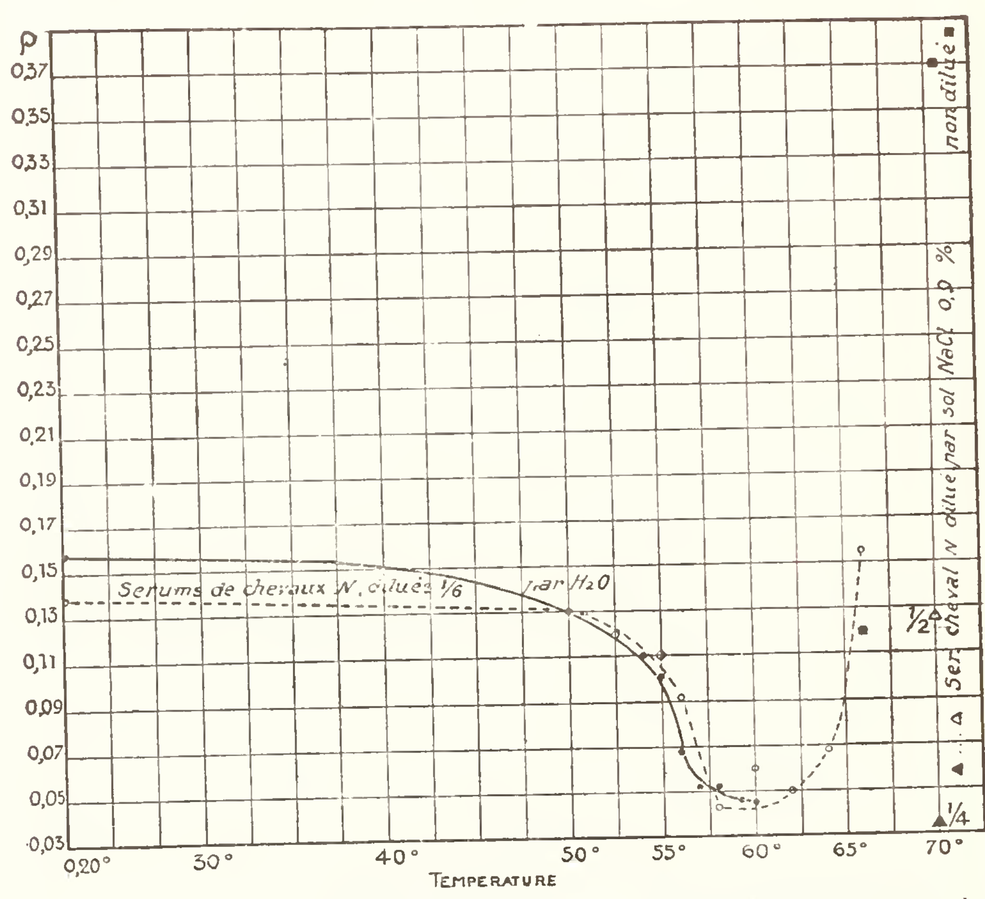


FIG. 66. — Facteur de dépolarisation de solutions de sérum de cheval en fonction de la température. On observe une diminution importante à partir de 55°, diminution qui n'est pas observée quand le sérum est dilué au moyen de la solution physiologique de NaCl à 0,9 p. 100. Les triangles blancs et noirs correspondent aux valeurs obtenues avec un sérum ainsi dilué au 1/4 et à 1/2. On constate que ces valeurs sont plus basses que celles observées avec le sérum dilué au 1/6 par HO.

Mais après qu'une certaine valeur minima est atteinte (au-dessous de 60° pour le sérum de cheval, au-dessus de 60° pour le bœuf et le chien) on observe un accroissement rapide et important de ρ. Il est très difficile d'interpréter ce phénomène, en raison de la double altération subie par les protéines du fait de la dilution d'une part, et de la haute température d'autre part. Albumines et globulines sont irrémédiablement dénaturées et probablement désintégrées.

Ainsi, pour résumer ce chapitre : quand on dilue du sérum

non chauffé avec de l'eau distillée, on constate, pour celui qui a été porté aux environs de la température critique, c'est-à-dire entre 55° et 59° suivant l'animal, une modification très nette de la dispersion des globulines précipitées qui, pour une différence de température de l'ordre de 1° (entre 57° et 58° par exemple), se manifeste par la stabilité de la suspension à 58° tandis qu'elles se sédimentent à 57°. La netteté du phénomène dépend entre autres facteurs du pH de la solution.

Il existe un *point critique de stabilité* qui se déplace vers les basses températures quand le temps de chauffage augmente : pour le cheval il est, par exemple, à 58° pour un chauffage de cinq minutes et à 53° pour un chauffage de deux heures. L'influence du temps de chauffage diminue très rapidement au-dessous de 55°.

Le facteur de dépolarisation du sérum dilué, élevé quand le sérum n'a pas été chauffé, diminue brusquement vers 55° pour atteindre une valeur minima vers 58° pour le cheval et vers 65° pour le chien et le bœuf, après quoi il remonte rapidement. La stabilité de la solution (sédimentation nulle ou très faible) semble correspondre à ce minimum, qui pourrait caractériser un état colloïdal de la suspension des globulines.

CHAPITRE VIII

Phénomènes ioniques-II

La conductivité électrique du sérum en fonction de la température

Les chapitres précédents permettent déjà de se faire une idée plus claire des phénomènes qui accompagnent ou qui déterminent la propriété particulière du sérum connue sous le nom de : destruction du complément.

La logique nous permettait de prévoir un autre phénomène à ajouter à la liste de ceux qui caractérisaient cette température critique, à savoir une modification dans la conductivité électrique du sérum. En effet, nous avons constaté une augmentation du volume des molécules au détriment du liquide où elles se trouvent en solution. L'espace offert aux ions conducteurs du courant se trouve donc réduit ; les mouvements des ions peuvent se trouver freinés par l'accroissement du volume des molécules sériques, accroissement qui, nous l'avons vu, se manifeste par une augmentation de viscosité. D'autre part, la concentration en sels peut se trouver augmentée, si seules, les molécules d'eau sont adsorbées. D'une façon ou de l'autre, on pouvait admettre que la température critique se manifesterait d'une façon nouvelle et mesurable. C'est dans le but de nous en assurer que nous avons entrepris les expériences que nous allons décrire.

*
* *

Tout d'abord, nous avons dû perfectionner quelque peu le

dispositif classique de Kohlrausch, et nous nous sommes arrêtés à la technique suivante (1) :

Technique. — 1° *Source de courant alternatif* : Afin d'obtenir un silence bien délimité, il est essentiel que la source de courant soit autant que possible dépourvue d'harmoniques, c'est-à-dire proche d'une sinusoïde parfaite. On obtient ce résultat aujourd'hui d'une façon élégante au moyen de lampes triodes, mais l'appareillage est assez compliqué, et nous avons obtenu d'excellents résultats avec un oscillateur construit par la General Radio Corporation de Boston, qui comporte simplement un diapason entretenu électriquement, un microphone et un circuit induit. Cet appareil excité par un courant continu de 6 volts émet un courant alternatif à fréquence musicale (1.000 périodes par seconde) suffisamment pur. Son fonctionnement est silencieux et très régulier ;

2° *Audition* : On sait que l'équilibrage des branches du pont de Kohlrausch se détermine en général au moyen d'un téléphone. Cet appareil a l'inconvénient de relier l'opérateur au pont par un fil, et de comporter un casque dont l'emploi devient très gênant quand les mesures se prolongent. Nous avons donc remplacé le téléphone par un haut-parleur relié à un système d'amplificateur à deux lampes triodes, directement connecté aux bornes « Téléphone » du pont. Ce dispositif présente plusieurs avantages : 1° il permet de réduire au minimum l'intensité du courant traversant la cuve contenant le liquide étudié, ce qui diminue l'échauffement de ce dernier, sans pour cela que le son devienne inaudible, puisqu'il est amplifié environ 800 fois : 2° il laisse l'opérateur indépendant de l'appareil et rend les mesures plus agréables ; 3° il augmente la sensibilité du pont en permettant de faire varier dans de larges limites l'intensité du courant sortant du pont, tout en laissant constant le courant circulant dans le pont et la cuve ;

3° *Pont* : Nous avons employé un pont à décades, à résistances non inductives, de Leeds et Northrup. Les valeurs absolues des résistances ne sont exactes qu'à 0,05 % près. Mais comme nous

(1) Lecomte du Noüy, *Ann. Inst. Pasteur*, **50**, p. 127, 1933.

recherchions surtout les modifications de la résistance en valeurs relatives, nous avons pu atteindre une précision relative beaucoup plus grande ;

4° *Cellule* : Nous avons été amenés à essayer un grand nombre de cellules de formes différentes. En effet, il existe de bonnes cel-

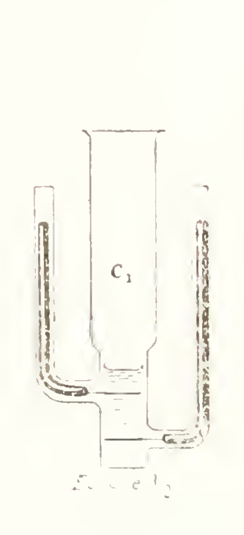


Fig. 67. — Cellule de conductivité petite capacité C_1.

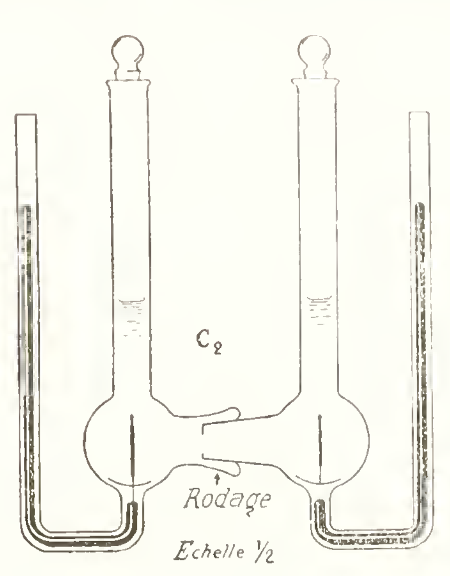


Fig. 68. — Cellule de conductivité de capacité moyenne C.

lules sur le marché, mais elles exigent l'emploi d'une quantité de liquide incompatible avec nos disponibilités. Il s'agissait donc de trouver une cellule sensible de faible capacité : ces deux qualités étant contradictoires, nous avons dû tâtonner pour arriver à adopter les deux modèles suivants, à électrodes de platine soudées dans le verre. Il est en effet absolument essentiel que les lames de platine soient soudées rigidement au verre. Sinon, il est difficile et même impossible de répéter les mesures. Il est inutile d'ajouter que le verre employé doit être parfaitement neutre (Pyrex par exemple).

A) Modèle à faible capacité (2 cent. cubes). La figure 67 montre que la forme en est classique. La sensibilité d'une telle cellule dépend largement de la distance entre l'électrode inférieure et le fond de la cuve : pour un diamètre de la cuve de 10 millimètres, les électrodes (disques) ayant un diamètre de 7 à 8 millimètres, cette distance doit être de 5 millimètres. Si elle est réduite à 3 millimètres, la cuve devient 10 fois moins sensible par suite des effets de capacité électrique ;

B) Modèle à capacité moyenne (8 à 10 cent. cubes), à sensibilité variable. La figure 68 montre l'aspect de cette cellule qui s'est démontrée très satisfaisante. Les sphères de verre ont 20 millimètres de diamètre intérieur et les électrodes (disques de 10 à 12 millimètres de diamètre) occupent au centre une place excellente réduisant au minimum les effets de capacité. Le nettoyage en est facile, grâce au fait que les deux sphères peuvent se séparer l'une de l'autre, car elles sont réunies par un joint rodé. On fait varier la sensibilité en interposant une allonge rodée entre les deux sphères. Sans allonge, une telle cellule présente une résistance d'environ 650 ohms pour du sérum pur (cheval) ou pour une solution de KCl à 7 °/₀₀. Étant donné que sur notre pont à décades le bras de rapport était au 1/10, et que l'on pouvait déceler à l'oreille le 1/10 d'ohm, la sensibilité de cette cellule atteignait 1,5 p. 10.000, soit 0,015 %. Cette sensibilité exigeait un thermostat réglé au moins au 1/100 de degré près, car une différence de 2/100 de degré était discernable à l'oreille et le courant, pourtant très faible, ne devait pas passer pendant plus d'une minute sous peine de produire une élévation de température faussant les mesures.

Dans ces conditions, les erreurs dues aux écarts de température étaient négligeables, car, exprimées en unités de conductivité, une différence de 0°01 ne se traduisait que par une erreur de 0,000.002.6 mhos/cm., soit de l'ordre de 0,01 %.

5° *Thermostat*: Le thermostat à chauffage électrique que nous avons construit comporte une cuve cylindrique de 20 litres en tôle émaillée, calorifugée d'une forte épaisseur (20 millimètres) de feutre. L'agitation est obtenue au moyen d'un hélice à quatre pales de 12 centimètres de diamètre, montée directement sur l'arbre prologé d'un moteur électrique. L'hélice est placée latéralement dans la cuve et inclinée à 45° environ, de façon à entraîner toute la masse d'eau dans un mouvement giratoire. Le moteur, monté avec une forte résistance en série, tourne à une vitesse de 120 tours-minute seulement, ce qui assure naturellement un silence parfait et nécessaire. Le courant d'eau chassé par l'hélice rencontre l'élément chauffant (chauffe-eau ordinaire de commerce) de forme plate qui se trouve ainsi léché de tous côtés par l'eau, ce qui permet un bon rendement calorifique et une diffusion

rapide des calories. Le régulateur à toluène et mercure, que nous avons fait construire spécialement (¹), permet une régulation au 2/1.000 de degré quand les périodes de chauffage et de refroidissement sont assez longues pour que toute sa masse puisse se mettre en équilibre thermique avec l'eau et que la température du laboratoire est constante. Avec les périodes qui nous étaient imposées par la faible masse d'eau et le calorifugeage insuffisant, nous avons atteint environ ± 0°003 (périodes de trois à quatre minutes), ce qui était suffisant pour nos besoins. Le thermomètre employé était au 1/100 de degré, ce qui permettait au moyen d'une loupe, d'estimer aisément les 2/1.000.

Précautions générales. — Tous les conducteurs électriques étaient armés et leur armature mise à la terre par soudure. L'oscillateur générateur de courant était enfermé dans une boîte de tôle formant cage de Faraday, à la terre également. En général, toutes les précautions furent prises pour l'isolement électrostatique de chaque élément, et c'est à l'ensemble de ces précautions que l'on doit de pouvoir atteindre couramment la sensibilité de l'ordre de 1/10.000. Au besoin, un condensateur à air variable était monté en parallèle avec la cuve, afin d'équilibrer la capacité électrostatique de celle-ci par rapport à celle du pont. Nous avons trouvé expérimentalement qu'il y avait avantage à mettre une des bornes de la sortie du courant (sortie du pont) à la terre également.

Dans ces conditions, les mesures publiés ici sont affectées d'une erreur relative probable ne dépassant pas ± 0,026 % [Les mesures donnent les résistances en ohms, transformées en résistivités (résistance d'un cube de liquide de 1 centimètre d'arête, donc 1 cent. carré de section et 1 centimètre de long), au moyen de la constante de la cuve employée. Mais l'habitude veut que l'on parle plutôt de la conductance et de la conductivité, égales aux inverses des grandeurs précédentes et exprimés en mhos :

$$\text{Conductivité} = \frac{1}{\text{résistivité}} \text{ mhos/cm.}$$

Nous publions donc les résultats de nos expériences sous forme de mesures de conductivité en mhos/cm.]

Toutes les précautions ci-dessus exposées étaient nécessaires,

(¹) Voir Lecomte du Noüy, *Méthodes physiques en biologie et en médecine* (Baillère, Paris, 1933), pp. 36 et suiv.

surtout en raison de la petitesse des phénomènes exposés au paragraphe C ; on s'en rendra compte d'après les chiffres obtenus.

Nous étudierons d'abord : A, la conductivité du sérum normal

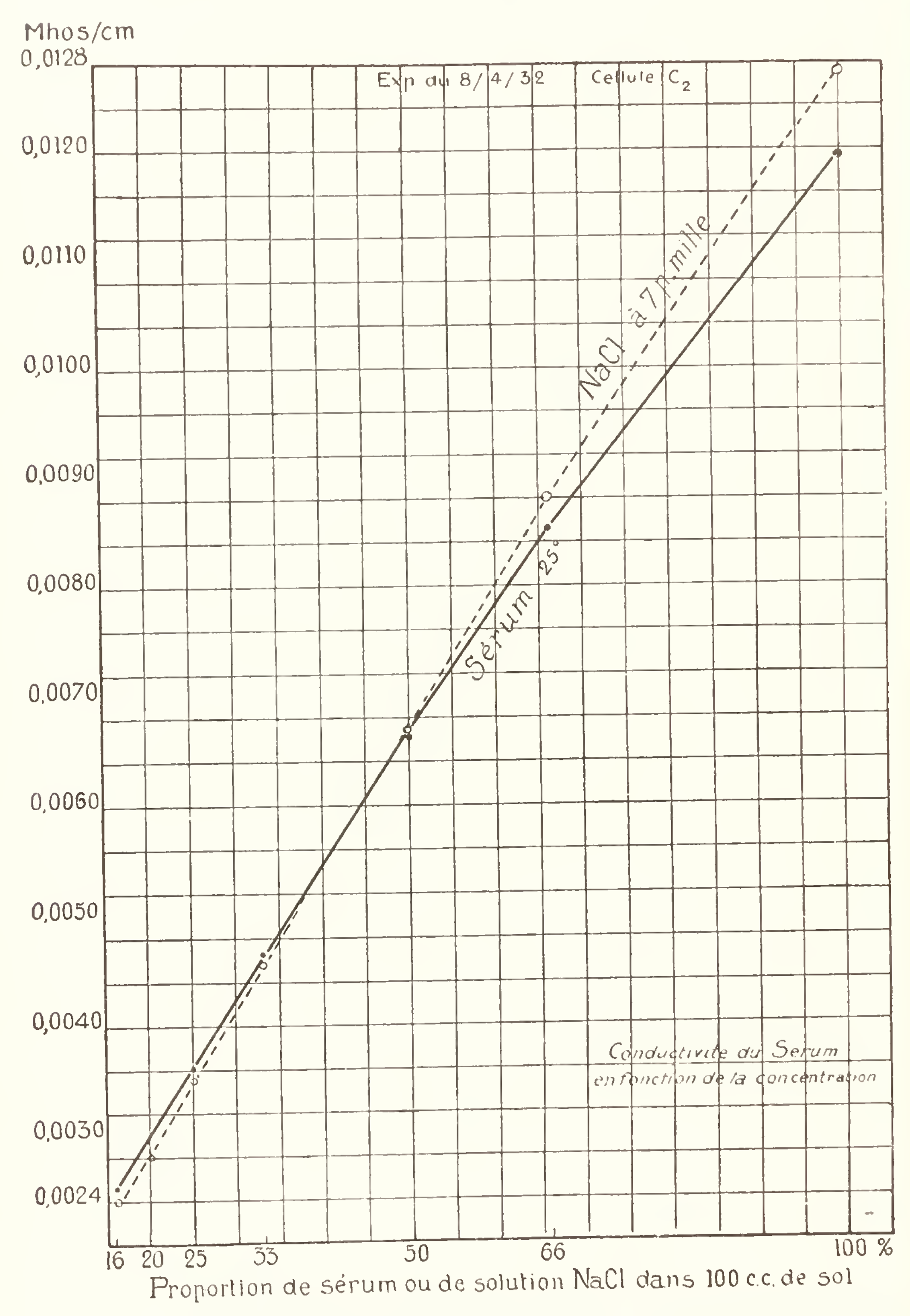


Fig. 69. — Conductivité du sérum (cheval normal) à 25° en fonction de la concentration, et d'une solution de NaCl à 7 p. 1.000 dilué dans les mêmes conditions que le sérum (eau distillée).

de cheval non chauffé, puis chauffé, en fonction de la dilution. Ensuite, B : la conductivité du sérum pur et dilué en fonction de la température, de 25° à 70° ; puis, C : la conductivité du sérum pur

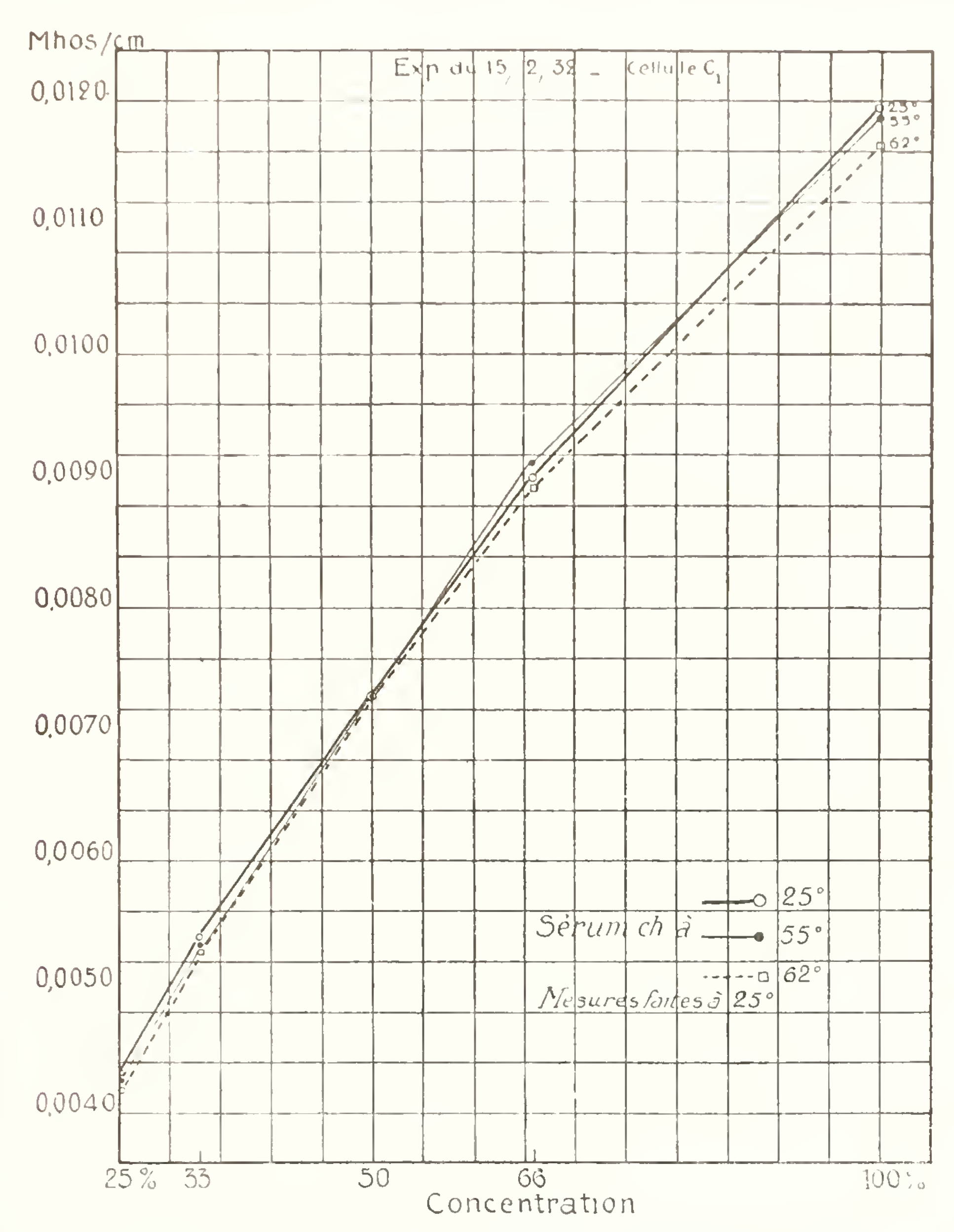


Fig. 70. — Conductivité d'un sérum de cheval normal à 25° après qu'il eut été porté à 55° et à 62° pendant dix minutes en tube scellé, comparé à la conductivité du même sérum non chauffé, en fonction de la concentration dans l'eau distillée.

non chauffé et chauffé pendant dix minutes, les mesures étant faites sur le sérum après refroidissement, et enfin, D : la conductivité du sérum dilué d'eau distillée après et avant la sédimentation des globulines précipitées.

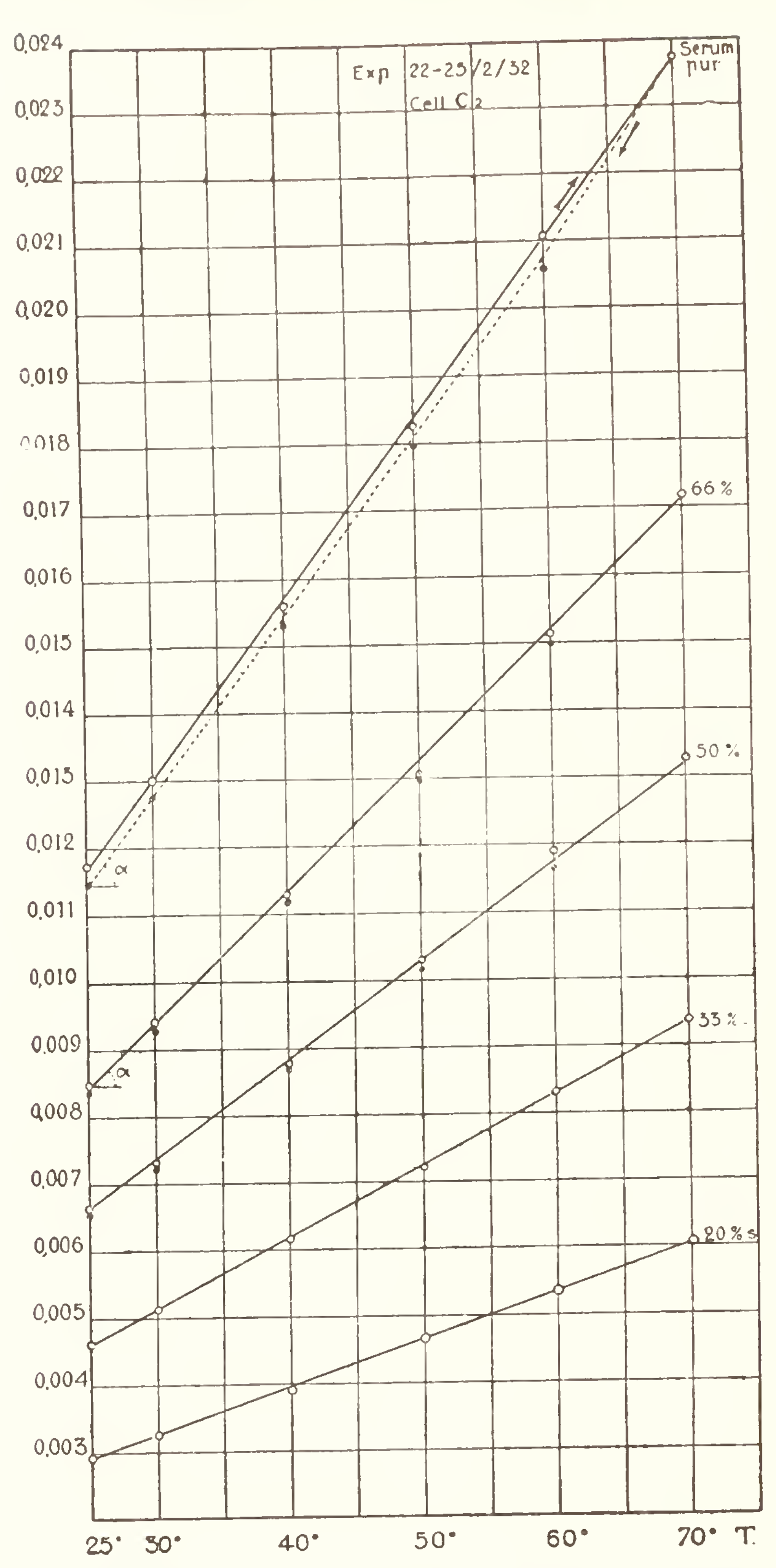


FIG. 71. — Augmentation de conductivité du sérum pur et dilué d'eau distillée, en fonction de la température. La courbe pointillée et les points noirs pleins indiquent les valeurs obtenues pendant le refroidissement tandis que les cercles et les traits pleins correspondent aux mesures faites pendant le chauffage.

Résultats expérimentaux

A. La conductivité du sérum normal du cheval diminue progressivement avec la dilution, suivant une courbe régulière (fig. 69) sensiblement identique à celle représentant la conductivité d'une solution de NaCl à 7 °/₀₀. On voit que, pur, la con-

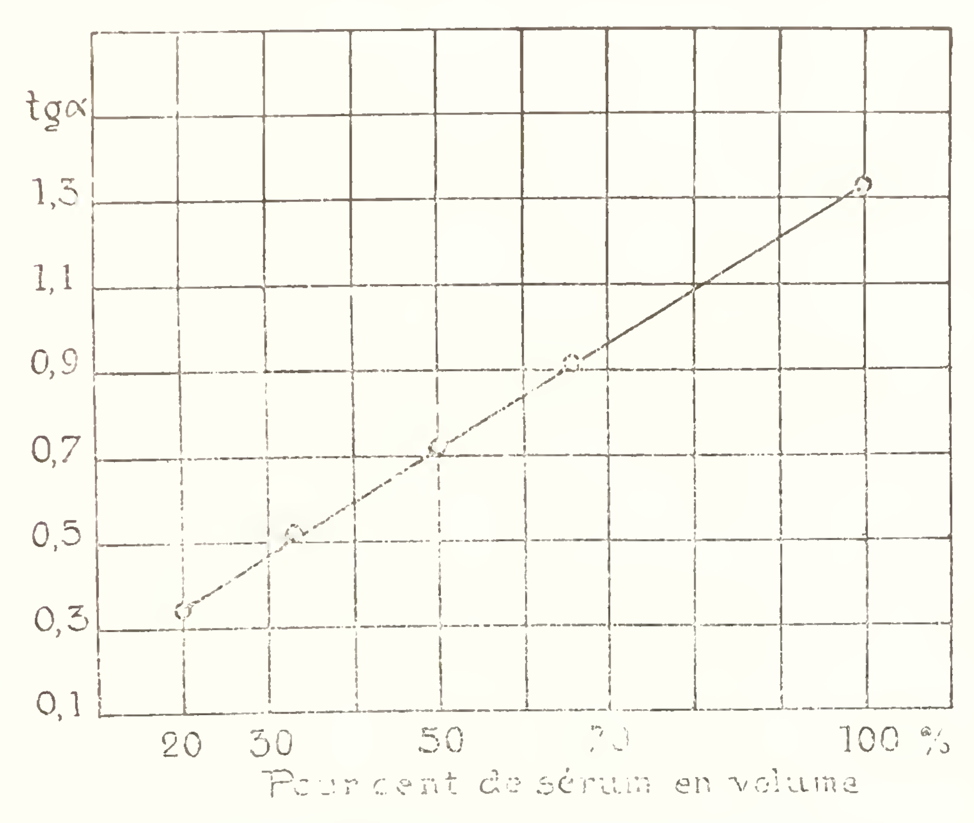


Fig. 72. — Les abscisses expriment les tangentes des angles α de la figure 71 et les ordonnées, les proportions de sérum en volume pour cent. On voit que la proportionnalité est rigoureuse.

ductivité de cet échantillon est, à 25° ± 0,002, 0,01192 mhos centimètre et, dilué de cinq fois son volume d'eau distillée, de 0,00245 mhos/centimètre. Quand le sérum a été porté à 54°, 55°, 58°, 59° et 62° en tube scellé, puis refroidi et ensuite dilué, les courbes représentant la conductivité sont, à peu de chose près, identiques à celles obtenues au moyen de sérum non chauffé. Tout au plus remarque-t-on que le sérum chauffé a une tendance à présenter une conductivité légèrement plus faible (fig. 70).

B. La conductivité du sérum augmente de façon sensiblement linéaire avec la température, de même que celle d'une solution

saline, mais moins vite, c'est-à-dire que la pente de la courbe est un peu moins accusée pour cette dernière. La figure 71 représente cet accroissement pour du sérum pur et dilué d'eau distillée. Au fur et à mesure que la dilution augmente, la pente des droites

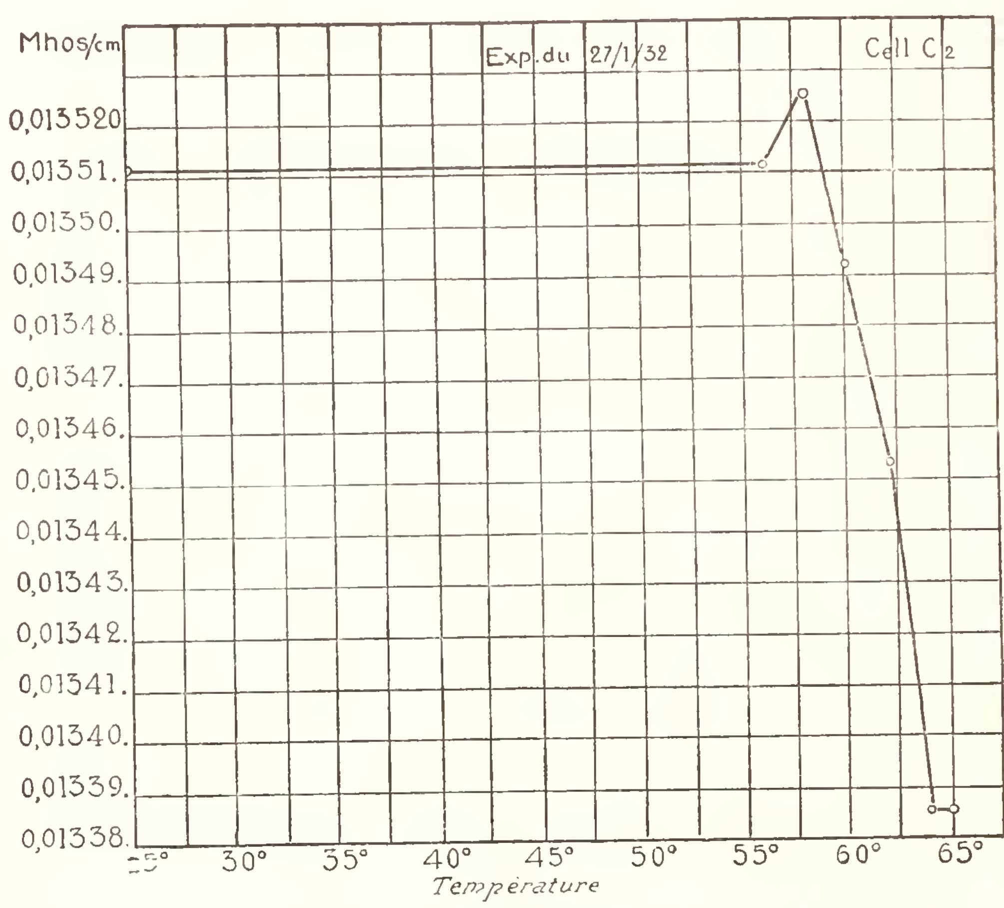


FIG. 73. — Conductivité d'un sérum de cheval normal à 25°, en fonction des températures auxquelles il a été porté pendant vingt minutes.

diminue d'une quantité proportionnelle à la dilution. La figure 72, où l'on a porté en ordonnées la tangente de ces droites avec l'axe des x et en abscisses le pourcentage de sérum, le montre clairement. Ceci tend à prouver que le chauffage et l'hydratation des protéines n'entraînent pas la fixation d'ions sur celles-ci et qu'elles ne jouent qu'un rôle de freinage sur lequel nous reviendrons tout à l'heure.

C. Nous arrivons maintenant à la conductivité du sérum pur chauffé en tube scellé dans un thermostat à eau pendant dix ou vingt minutes, puis refroidi à la température du laboratoire. Les

mesures étaient toutes faites à 25° ± 0,002. Le tableau XXX et la figure 73 donnent les résultats d'une expérience.

La chute entre 56° et 65° est de 0,000127, soit un peu inférieure à 1 %. On constate une augmentation momentanée de la conductivité à 58°, immédiatement suivie de la baisse. Cet accident se produit fréquemment, mais pas toujours, tantôt au début de la courbe, tantôt plus tard (voir figures).

Ainsi donc, voici un phénomène de plus, le sixième, à ajouter à la liste des modifications irréversibles et mesurables, entraînées par le chauffage du sérum au-dessus de 55°. Nous avons déjà vu en commençant, qu'on pouvait le prévoir *a priori*.

L'expérience ci-dessus se rapporte à un sérum chauffé pendant vingt minutes ; celle dont les résultats sont exprimés dans le tableau XXXI, à un sérum chauffé pendant dix minutes.

TABLEAU XXX

Conductivité d'un sérum N. de cheval (Institut Pasteur), 27 janvier 1932. Cellule C_2. Chauffé vingt minutes puis refroidi à 25° (fig. 7)

TEMPÉRATURE (degrés)	CONDUCTIVITÉ (mhos/cm.)
25	0,013512
50	0,013512
56	0,013512
58	0,013526
60	0,013492
62	0,013454
64	0,013385
65	0,013385

TABLEAU XXXI

Conductivité d'un sérum de cheval N. (Institut Pasteur), 27 avril 1932. Cellule C_2. Chauffé 10 minutes. Température de mesure: 25°.

TEMPÉRATURE (degrés)	CONDUCTIVITÉ (mhos/cm.)
25	0,012168
50	0,012168
54	0,012168
55	0,012161
57	0,012151
58	0,012141
59	0,012103
60	0,012105
64	0,012092

Ici la chute est de 0,000076 mhos, soit 0,6 % environ, et le phénomène débute à 55°. Pour plus de clarté, nous remplacerons maintenant les tableaux par des courbes. Les figures 74, 75 et 76 (phénomène débutant entre 54° et 55°) montrent que l'amplitude varie parfois considérablement puisque le sérum n° 161 (fig. 75) manifeste une chute de 0,000178 mhos, soit de 1,5 %. Elles mon-

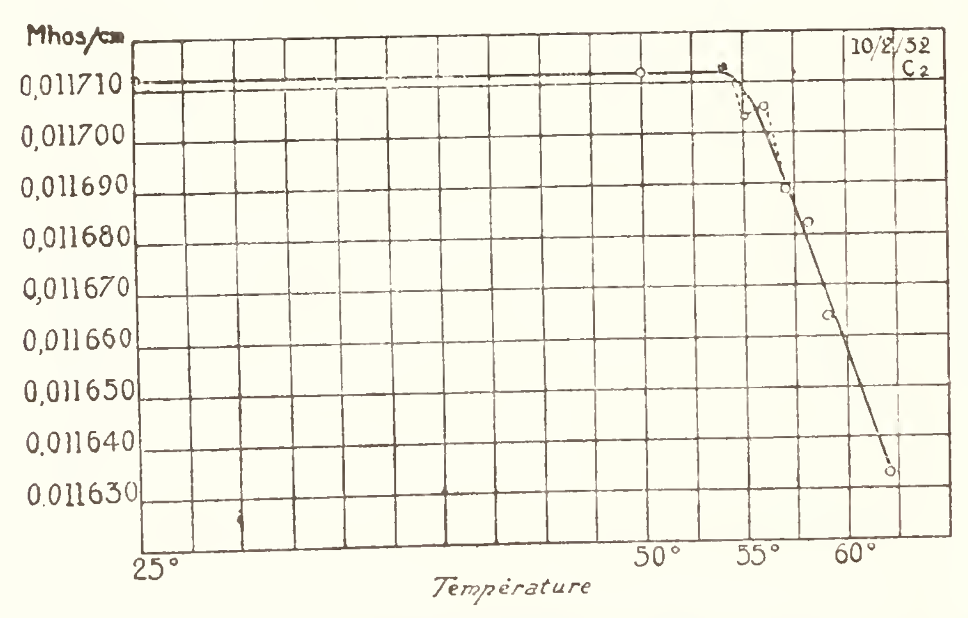


FIG. 74. — Conductivité d'un sérum de cheval normal à 25°, en fonction des températures auxquelles il a été porté pendant vingt minutes.

trent, de plus, qu'il se produit souvent des accidents dans la courbe, c'est-à-dire des accroissements momentanés de la conductivité qui semblent bien ne pas être dus uniquement à des erreurs expérimentales. Le fait que le sérum provient d'un ani-

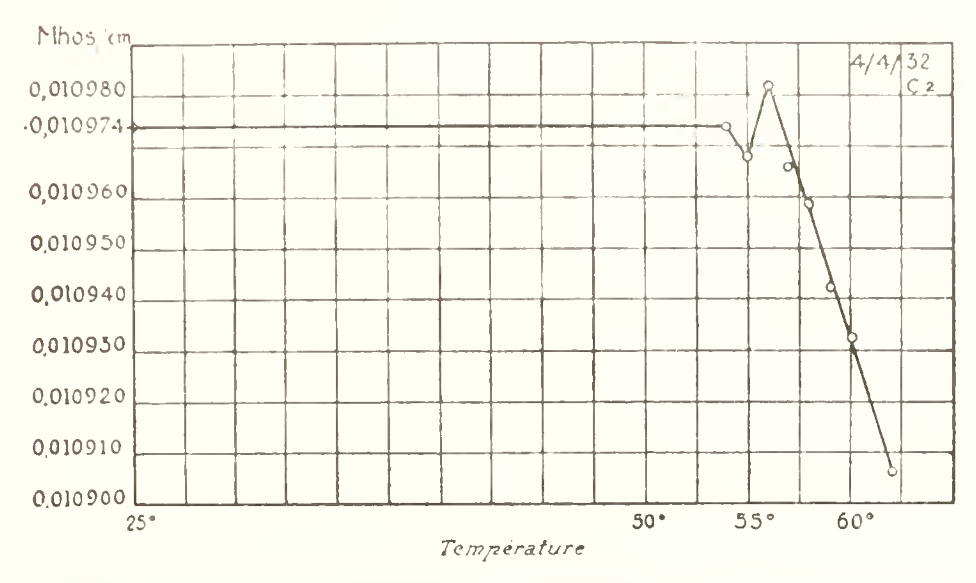


Fig. 75. — Conductivité d'un sérum de cheval normal à 25°, en fonction des températures auxquelles il a été porté pendant vingt minutes.

mal immunisé n'entraîne aucune modification de ce phénomène de chute de la conductivité. La figure 77 (cheval immunisé, gangrène) le montre clairement. Nous avons obtenu les mêmes résul-

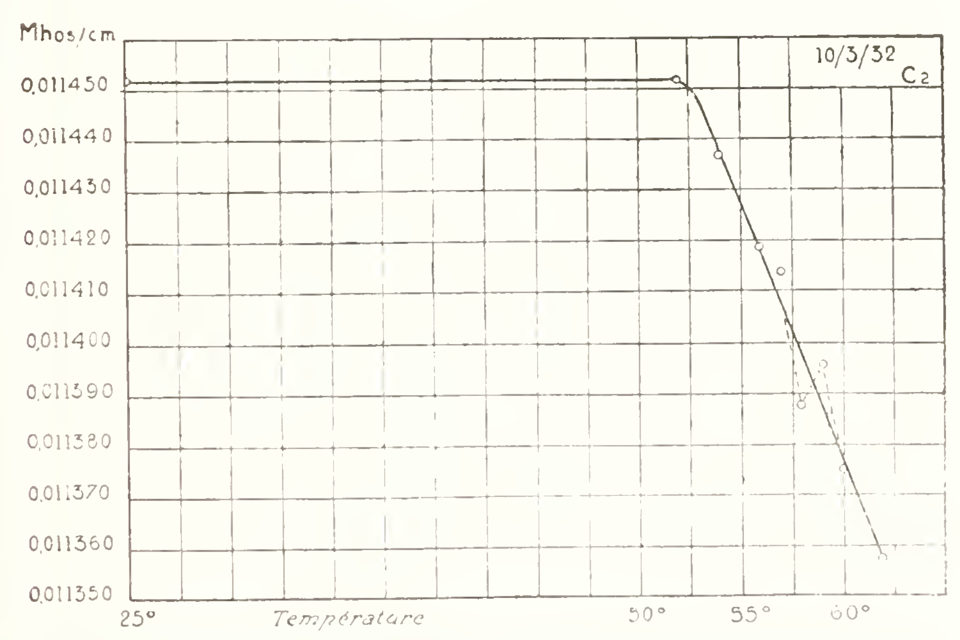


Fig. 76. — Conductivité d'un sérum de cheval normal à 25°, en fonction des températures auxquelles il a été porté pendant vingt minutes.

tats avec des animaux immunisés contre : perfringens, venin aspic, charbon.

D. Quand on précipité les globulines par de l'eau distillée (5 cent. cubes d'eau + 1 cent. cube de sérum) et qu'on mesure

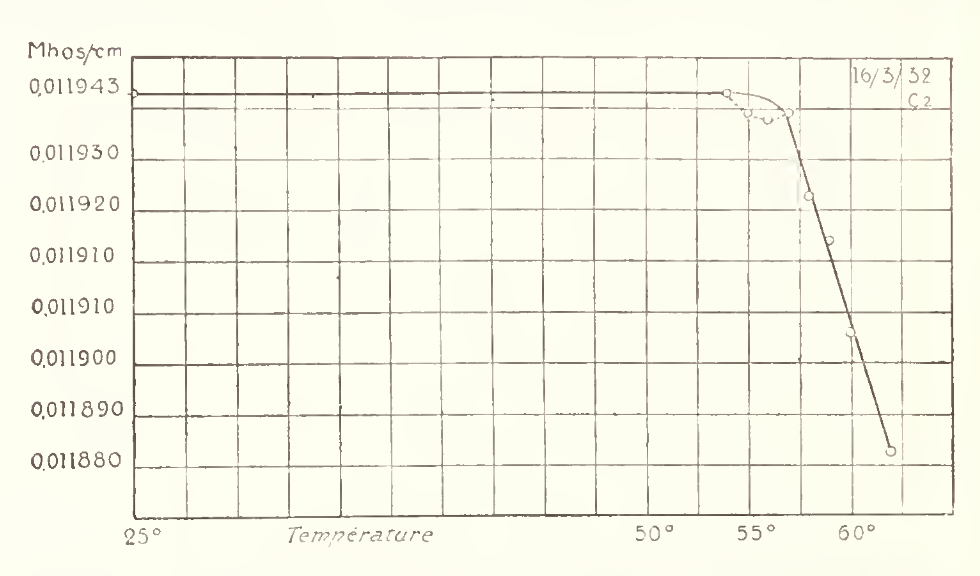


FIG. 77. — Conductivité d'un sérum de cheval immunisé, gangrène, à 25°, en fonction des températures auxquelles il a été porté pendant vingt minutes.

la résistance de la solution trouble, agitée, et la résistance du liquide claire, décanté après sédimentation des globulines, on observe que la solution *claire* a une *résistance plus faible* que la solution trouble, donc une *conductivité plus grande*. On obtient par exemple les chiffres suivants :

Solution de sérum + H_2O (1/5) au bout de vingt-quatre heures. Liquide trouble, agité : résistance, 452 ohms 5. Liquide clair, décanté, résistance : 448 ohms 4.

Autre expérience :

Liquide trouble : 459 ohms 4 ; liquide clair : 450 ohms 7.

On voit que les particules de protéines en suspension diminuent la conductivité.

CONCLUSIONS

L'explication de ce phénomène d'augmentation de résistivité ou de diminution de conductivité est simple. La conductivité

d'une solution dépend du degré de dissociation des électrolytes et du frottement des ions. Or, les non-électrolytes, les protéines non dissociées du sérum, agissent en sens contraire en ralentissant, en freinant les ions et peut-être, comme le croient Hamburger et d'autres, en diminuant la dissociation. Nous disons « peut-être », car le mécanime de cette diminution ne nous paraît pas clair (1). Nos expériences prouvent que la conductivité diminue après le chauffage au-dessus de 55°. Or, nous savons que la viscosité du sérum augmente à partir de cette température, par suite de la fixation irréversible d'eau par les molécules protéiques. Le freinage des ions se trouve donc augmenté, mais dans une faible mesure, par suite de la diminution du volume du solvant et de l'augmentation du volume des molécules dissoutes. Par exemple, reportons-nous à la figure 76 et au tableau XXXI. Dans le cas du tableau, nous n'observons qu'une diminution de conductivité de 0,6 %, alors qu'elle est près de 3 fois plus forte dans le cas de la figure 76 : 1,5 %. Or, l'accroissement de viscosité du premier sérum était bien moins grande que celle du second, qui était presque coagulé à 62° alors que le premier ne l'était pas à 64°. Il s'agit donc là d'un phénomène mécanique corrélatif de l'hydratation des protéines. Il doit être possible mathématiquement de démontrer ce fait, car nous possédons des éléments qui nous permettent, sinon d'arriver à rendre

(1) Le freinage dû aux non-électrolytes diminue si l'on dilue le sérum, et le degré de dissociation augmente. Oker-Blom (*Pflügers Arch.*, **79**, p. 510, 1900) a calculé ce qu'il appelle la « conductivité physiologique » du sérum qui n'est autre que la conductivité spécifique multipliée par la dilution. Cette conductivité physiologique augmente avec la dilution, nous l'avons vérifié, jusqu'à atteindre une valeur à peu près constante pour une dilution de 256 fois. Des solutions de sels purs, sans protéines, de même conductivité initiale, diluées dans les mêmes proportions, ne manifestent pas une augmentation de conductivité aussi rapide, car seule la dissociation entre en jeu. Se basant sur les valeurs observées, Oker-Blom obtient une valeur de la constante de dissociation des sels dans le sérum de 0,65. Ce chiffre est trop faible, et Tangl, en introduisant une correction de frottement, obtient 0,82. Or, une solution de NaCl à 0,7 %, diluée 20 fois, a un coefficient de dissociation de 0,88. La courbe de dissociation des électrolytes du sérum a une pente plus accusée que celle des sels purs. Voir Shields, *Zeitschr. f. Physik. Chemie*, **12**, 1893. Voir aussi : Hamburger, *Osmotischer Druck und Ionen Lehre* (Wiesbaden, J.-F. Bergman, 1902), **1**, pp. 471 et suiv., attribue le phénomène à la présence dans le sérum de CO_3Na_2 qui est dissocié par hydrolyse en NaOH et CO_3NaH : au cours de cette hydrolyse, il se produit des ions OH qui ont une vitesse trois fois plus grande que la plupart des autres ions ; il s'ensuivrait un accroissement de la conductivité physiologique.

compte quantitativement du phénomène tout au moins de prévoir le sens dans lequel il doit se produire (augmentation ou diminution de la conductivité) et son ordre de grandeur.

Ce calcul n'est pas inutile car le seul raisonnement, en partant de l'hypothèse qui sert de base, ne suffit pas à faire prévoir lequel des deux, augmentation ou diminution, l'emportera sur l'autre.

En effet, que se passe-t-il lorsque le sérum a été chauffé au-dessus de 55°? Tout d'abord une fixation d'eau : c'est le fait indiscutable. Mais la fixation d'eau sur les protéines entraîne une augmentation de la concentration des sels, par suite de la diminution du solvant, et par conséquent une augmentation de la conductivité. D'autre part, l'accroissement du volume des molécules non conductrices du courant, qui est la conséquence de cette fixation d'eau (en dehors de toute hypothèse en ce qui concerne la façon dont cette eau est fixée), entraîne un « freinage des ions », une diminution de la conductivité. *A priori*, il est impossible de savoir lequel des deux phénomènes contradictoires masquera l'autre, ou s'ils s'annuleront par suite de leur égalité. Or, en nous basant sur les valeurs expérimentales que nous avons publiées et qui expriment la quantité d'eau fixée sur les protéines du sérum en fonction de la température [1], nous avons calculé, avec l'aide de M. P. Martignan, d'une part, l'augmentation de concentration des sels et d'autre part l'augmentation moyenne de la section des molécules. En ce qui concerne le mécanisme même du freinage, nous avons été obligés d'introduire quelques hypothèses dont certaines avaient pour but de simplifier les calculs. Et nous sommes arrivés aux conclusions suivantes : l'accroissement de la conductivité, due à l'accroissement de la concentration entre 55° et 64°, est faible par rapport à la diminution de conductivité due à l'augmentation de volume des molécules. Donc, qualitativement, le calcul prévoit une diminution de la conductivité, ce qui se trouve confirmé par l'expérience. Mais, quantitativement, le chiffre exprimant le freinage est environ trois fois plus faible que la valeur trouvée expérimentalement. L'ordre de grandeur est donc correct, mais nous ne possédons pas encore tous les éléments qui nous permettraient de calculer exactement le phénomène observé.

[1] Voir chapitre premier.

Les dernières expériences mentionnées (D) montrent bien le rôle des particules de protéines en suspension. Il se peut d'ailleurs, dans ce cas, qu'une certaine portion des sels soit entraînée par absorption dans le sédiment. Mais ceci ne peut se produire dans le cas de chauffage où les molécules gonflées d'eau restent en solution.

CHAPITRE IX

Phénomènes ioniques-III

La concentration en ions hydrogène en fonction de la température

Il était intéressant d'essayer de se rendre compte si les phénomènes que nous avons signalés jusqu'à présent n'étaient pas accompagnés d'une modification dans la concentration des ions hydrogène. Cette idée semblait d'autant plus plausible que le pouvoir rotatoire augmente à partir de 54° et qu'il se produit, quand on dilue le sérum, des phénomènes que l'on peut rattacher à l'équilibre ionique du système, entre autres des variations dans la vitesse de sédimentation des globulines, ainsi que nous venons de le voir au chapitre précédent.

Travaux antérieurs. — Pour la première fois, nous nous trouvons en face d'expériences antérieures dont nous devons tenir compte. En effet, plusieurs auteurs, depuis 1907, se sont proposé d'étudier les changements dans la concentration des ions hydrogène au cours de l'inactivation du sérum. Malheureusement, ils ne sont pas d'accord, et l'absence de détails techniques dans leurs mémoires ne permet pas dans tous les cas de s'assurer de la source des erreurs. Il est cependant probable que tous ceux qui ont constaté une alcalinisation ont négligé d'empêcher la fuite de CO_2, ou l'ont fait d'une manière insuffisante. Lieberman [1], par exemple (1907), observe une forte augmentation d'ions hydroxyles après un chauffage de trente minutes du sérum

[1] L. et P. LIEBERMAN, *Arch. für Hygiene*, **62**, p. 315, 1907.

de cheval à 56° (pH 8,10 au lieu de 7,7). De même Tangl, qu'il cite, et Seligmann (1908) [1], dont la méthode laisse grandement à désirer (colorimétrique). Ces auteurs ne donnent pas d'indications sur la façon dont ils ont chauffé le sérum.

Au contraire, en 1909, Michaelis et Rona [2] ont chauffé du sérum pendant trente minutes à 56° et à 100° et ils n'ont pas trouvé de différences dans la concentration en ions hydrogène supérieures aux erreurs d'expérience. La conclusion de ces excellents opérateurs, qui ont pris toutes les précautions nécessaires, est qu'il ne semble pas y avoir de changement de pH au cours de la dénaturation, qu'il se produise une coagulation ou non. Ils en concluent encore que la coagulation par la chaleur ne peut pas être liée à une scission de la molécule de protéine qui mettrait en liberté des groupements acides ou basiques comme cela se produit sous l'influence de la trypsine : nous avons montré de notre côté, par une méthode différente, qu'il ne se produisait pas d'agrégation au cours du chauffage et qu'il ne pouvait se produire de scission, le nombre de molécules restant constant par unité de volume. Nos expériences recoupent donc celles de Michaelis et Rona. Dans le même mémoire, ils ont déterminé le pouvoir tampon du sérum et ont trouvé qu'il est mieux tamponné vis-à-vis des acides que des bases, ce que nous avons confirmé.

Davidsohn (1910) [3] a étudié la réaction du sérum chauffé à 56°, 65°, 75° et 100°. Pour empêcher la coagulation, il diluait le sérum de cinq à sept fois au moyen de NaCl $\frac{N}{8}$. Le chauffage était effectué en vase clos. Il trouve également que les différences entre le pH du sérum non chauffé et chauffé entre 55° et 100° pendant trente minutes, sont de l'ordre de grandeur des erreurs d'expériences.

Sörensen et Jurgensen (1911-1913) [4] arrivent à la conclusion que la coagulation totale des protéines du sérum par chauffage donne toujours lieu à une diminution de la concentration du milieu en ions hydrogène. Mais ces auteurs ont préalable-

(1) E. Seligmann, *Biochem. Zeitsch.*, **10**, p. 430, 1908.
(2) L. Michaelis, et P. Rona, *Biochem. Zeitsch.*, **18**, p. 317, 1909.
(3) H. Davidsohn, *Zeitsch. für Immunitätsforschung*, **5**, p. 182, 1910.
(4) S. P. L. Sörensen et E. Jurgensen, *C. R. des Travaux du Laboratoire de Carlsberg*, **10**, p. 1, 1911-1913.

ment déterminé le pH optimum pour la coagulation, soit pH 4,70 environ, et ont travaillé sur du sérum acidifié à pH 4,70. Ceci retire tout intérêt à leur travail, uniquement à notre point de vue, bien entendu.

Enfin, Hugo Hecht (1923) [1] sans donner ni technique, ni chiffres expérimentaux, déclare que l'inactivation du sérum par la chaleur augmente son alcalinité.

On voit donc que la question, bien qu'ayant été étudiée, n'a pas été résolue de façon satisfaisante.

Ces recherches devant entraîner un nombre considérable de déterminations du pH, nous avons commencé par expérimenter successivement la plupart des méthodes courantes pour lesquelles un appareillage existe dans le commerce. Nous avons été forcés de les éliminer les unes après les autres car, bien qu'elles fussent toutes bonnes en soi, aucune d'elles ne réunissait toutes les qualités que nous exigions, à savoir : précision maxima, fidélité, rapidité et facilité d'emploi. De plus, nous ne disposions que de petites quantités de liquide. Nous avons donc été amenés, comme dans le cas de la viscosité et, précédemment, de la tension superficielle et interfaciale, à créer un appareillage nouveau et une technique précise qui nous ont donné toute satisfaction. Les mesures, à une unité près de la seconde décimale, s'obtiennent avec 1/2 cent. cube de liquide en trois à six minutes. Le contrôle de la température est obtenu par circulation d'eau ; la quantité d'hydrogène nécessaire se réduit à quelques bulles. Cet appareil ayant été décrit ailleurs [2], nous nous bornerons à en rappeler le principe et à exposer la technique que nous avons suivie.

Technique [3]

L'appareil, qui comporte une électrode à volume constant d'hydrogène, se compose essentiellement d'un disque en platine platiné à demi-immergé dans la solution dont il s'agit de mesurer le pH, et dont la partie émergée baigne dans l'hydrogène main-

(1) H. Hecht, *Zeitsch. für Immunitätsforschung*, **36**, p. 321, 1923.

(2) Lecomte du Noüy, *C. R. Acad. Sc.*, **193**, 1931, p. 1117 ; *Science*, vol. LXXV, 1932, p. 643, et *Méthodes physiques en biologie et en médecine*, Baillère, Paris, 1933.

(3) Lecomte du Noüy et V. Hamon, *Ann. Inst. Pasteur*, **54**, p. 412, 1935.

tenu au-dessus du liquide en vase clos. Le disque étant soumis à une rotation autour de son centre, la partie immergée passe dans l'hydrogène, et la partie émergée dans le liquide. Quand il tourne à 150 ou 200 tours par minute, on comprend qu'une certaine quantité de solution soit entraînée en une couche mince adhérente au platine. Cette couche, intermédiaire entre l'hydrogène gazeux et l'hydrogène atomique du noir de platine est rapidement saturée. Avec une électrode fraîchement platinée, on obtient, en deux ou trois minutes, une valeur qui n'est pas inférieure de plus de 0,02 *p*H à la valeur définitive, généralement atteinte en quatre à cinq minutes et correcte à 0,01 *p*H près pour le sérum ou le plasma sanguin. Lorsque les mesures portent sur des solutions tamponnées non protéiniques, on peut aisément les répéter à 0,001 près. Mais dans le cas du plasma ou du sérum, une telle précision est illusoire et l'on ne peut compter que sur une précision de ± 0,01, au maximum ([1]). On verra cependant plus loin que l'on peut tenir compte de la troisième décimale pour les valeurs relatives.

Récolte et conservation du sérum. — On sait que la mesure du *p*H du plasma, et en général de toutes les solutions carbonatées, dépend de la tension de CO_2 au-dessus de la solution, tension

([1]) Il n'est pas inutile de rappeler que la mesure de ce qu'on désigne couramment sous le nom d'indice logarithmique de Sörensen, le *p*H, consiste à proprement parler, en une mesure d'activité ; elle ne donne, théoriquement, qu'une valeur approchée de la concentration réelle en ions H^+. Cette dernière grandeur ne peut être précisée davantage dans l'état actuel de nos connaissances, car si l'on peut comparer facilement l'activité d'un électrolyte en solution pure, le problème devient beaucoup plus difficile à résoudre quand il s'agit de l'activité de chaque ion, en particulier dans une solution contenant plusieurs électrolytes. Il paraît raisonnable de penser que, dans les cas de concentrations aussi faibles que celles des ions H^+ des liquides de l'organisme (10^{-5} à 10^{-8} *n*), l' « activité » et la « concentration » sont près de se confondre. Ceci comporte toutefois une réserve en raison de la composition très complexe des milieux protéiques de l'organisme. Il faut faire, d'autre part, la même réserve pour les mesures du *p*H des solutions dont la concentration saline est élevée. A des concentrations salines égales ou inférieures à 0,15 *n*, c'est-à-dire égales ou inférieures à celles du milieu intérieur de l'organisme, l'activité et la concentration des ions H^+ ne dénotent pas de différences supérieures à *p*H + 0,01 à 0,02 (Kolthoff, 1925). L'ordre de grandeur de pareils écarts du pH est la limite de sensibilité des méthodes de mesure du *p*H (Bigwood, *Méthode de détermination du pH des liquides de l'organisme*, Paris, Masson, 1927). La méthode que nous employons a cependant une sensibilité bien supérieure, comme nous l'avons montré. (Lecomte du Noüy et Hamon, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **16**, 1934, p. 177.)

qui conditionne l'équilibre CO_2 — carbonates dans la solution. En moyenne, la pression partielle de gaz CO_2 dans le sang est de 40 millimètres de mercure. Cette pression est d'ailleurs variable. C'est pourquoi il est nécessaire d'effectuer les mesures en maintenant la solution ou le sérum au contact d'un volume constant d'hydrogène contenant du gaz CO_2 sous la même pression partielle que l'échantillon du liquide étudié. Dans ces conditions, la perte de CO_2, qui modifierait profondément la valeur du *p*H, ne peut se produire.

Pour cette raison, il est essentiel, quand on veut mesurer le *p*H d'un plasma dans le but de connaître le plus exactement possible le *p*H du sang circulant (qui n'est pas sensiblement modifié par la présence des éléments figurés), de récolter le sang sous huile de vaseline neutre, de boucher le tube à centrifuger par de la paraffine fondue (à 50°) et coulée au-dessus de l'huile de vaseline et de puiser le plasma — ou le sérum — avec une seringue au-dessous de la couche protectrice. Faute de prendre ces précautions, la perte de CO_2 détermine une alcalinisation rapide du liquide.

D'autre part, étant donné que, pour les réactions immunologiques, le sérum est manipulé à l'air libre, et que les phénomènes corrélatifs de la destruction de l'alexine (accroissement de viscosité, du pouvoir rotatoire, de la résistivité électrique, de la lumière diffusée, etc.) ont été observés sans qu'on prît de précautions spéciales, nous nous sommes placés, pour certaines expériences rapportées ci-après, dans les mêmes conditions, c'est-à-dire sans maintenir le sérum sous huile.

Chauffage du sérum. — Le chauffage fut toujours effectué en ampoules scellées à la lampe, dans les conditions où nous nous sommes placés pour les recherches précédentes, et, pour certaines expériences, en s'efforçant de réduire au minimum l'espace libre au-dessus du liquide. Après chauffage, les ampoules étaient refroidies afin de permettre au CO_2 dégagé pendant le chauffage de se redissoudre dans le sérum ; elles n'étaient ouvertes qu'au moment même de la mesure.

Nous avons employé pour effectuer le chauffage un thermostat spécial à eau dont la température était maintenue à mieux que

0°5 près pour des chauffages prolongés et à 2/10 de degré près pour les chauffages de dix minutes.

Remplissage de l'électrode. Saturation. — Toutes les mesures furent effectuées sur 0,4 cc. de liquide, avec 0,15 cc. à 0,20 cc. d'hydrogène lavé par barbotage dans une solution de pyrogallol à 5 % alcalinisée par la potasse. Pour obtenir des bulles très petites, l'hydrogène était forcé sous pression à travers la pastille de quartz d'un entonnoir en verre d'Iéna contenant la solution. Les bulles ainsi obtenues sont minuscules et le lavage efficace. La seringue-électrode était toujours préalablement rincée avec quelques gouttes du sérum à étudier et l'hydrogène était saturé de CO_2 dans la seringue-électrode par rotation au contact de deux échantillons successifs du sérum étudié, tous deux éliminés et remplacés par l'échantillon définitif. La tension de CO_2 dans l'hydrogène était donc déterminée par la tension de CO_2 dans le sérum en expérience (1).

Température. — L'appareil (ionomètre) comportant une circulation d'eau, entourant l'électrode d'hydrogène et l'électrode au calomel saturée, toutes les mesures furent effectuées à température constante à 0°5 près. Cette température est toujours mentionnée à chaque expérience.

Mesure électrique de la différence de potentiel. — Nous avons employé exclusivement, comme demi-élément positif par rapport à l'électrode d'hydrogène, l'électrode au calomel à KCl *saturé*. Comme potentiomètre, nous nous servons du grand modèle type K, de Leeds et Northrup, sensible au 1/100 de millivolt, accouplé au galvanomètre à miroir de la même maison. Mais nous avons surtout employé un potentiomètre automatique enregistreur de Leeds et Northrup, que la Maison M.E.C.I. de Paris, a spécialement établi pour nous et muni de 33 sensibilités qui nous permettent de couvrir à peu près toute l'échelle des *p*H avec possibilité de faire des lectures à environ 1/10 de millivolt près, soit grossièrement à 2/1.000 près. Ses valeurs étaient d'ailleurs contrôlées fréquem-

(1) Voir LECOMTE DU NOÜY et V. HAMON, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **16**, n° 2, 1934, p. 177, pour tous les détails de la technique, et *Méthodes physiques en biologie*.

ment au moyen du potentiomètre étalon type K, pendant les mesures.

L'avantage considérable de l'appareillage constitué par l'électrode rotative et le potentiomètre enregistreur, consiste dans l'élimination complète du coefficient individuel dans les mesures et dans la possibilité de conserver les graphiques directs de toutes les expériences.

Dans ces conditions, nous avons obtenu les résultats suivants :

Résultats expérimentaux

Premier groupe d'expériences. — Nous avons d'abord traité le sérum sans aucune précaution spéciale c'est-à-dire en le manipulant à l'air libre et en le chauffant dans des ampoules scellées. L'espace libre au-dessus du liquide étant légèrement différent d'une ampoule à l'autre.

Expérience n° 1. — Sérum de cheval normal. Température de la mesure 20°. Mesures au potentiomètre enregistreur, contrôlées par le potentiel étalon concordantes à 0,000.1 v. près [1].

	pH				
Electrode	20°	50°	55°	60°	65°
—	—	—	—	—	—
N° 1	7,920	»	»	7,910	»
N° 2	7,906	»	»	»	7,965
N° 3	7,906	7,933	»	»	»
N° 4	7,920	»	7,935	»	»

Dans cette expérience, nous constatons un accroissement de la valeur du *p*H, c'est-à-dire une alcalinisation comme l'avaient vu un certain nombre d'auteurs (Lieberman, Tangl, Seligman, Hecht).

Expérience n° 2. — Sérum de cheval normal. Température de la mesure 20°. Temps de chauffage dix minutes.

Electrode N° 1		Electrode N° 2	
Température en degrés	pH	Température en degrés	pH
—	—	—	—
20.	7,920	20.	7,874
45.	8,000	60.	7,959
50.	7,988	65.	7,976
55.	7,995	67.	7,973

(1) On remarquera que nous avons exprimé les *p*H avec 3 décimales.

Expérience n° 2.

Dans cette expérience, l'alcalinisation est beaucoup moins nette. Le phénomène n'est pas progressif. On se rend compte qu'il doit y avoir un facteur perturbateur indépendant de la mesure elle-même.

Expérience n° 3. — Sérum de coq. Température de la mesure 20°. Chauffé dix minutes.

Electrode N° 2		Electrode N° 3	
température en degrés	pH	température en degrés	pH
—	—	—	—
20.	7,617	20.	7,785
55.	7,865	40.	7,865
60.	7,870	45.	7,755
65.	7,850	50.	7,806
68.	7,885		

Expérience n° 3.

Cette expérience est franchement mauvaise. Si l'on constate une alcalinisation finale, on constate aussi des fluctuations inexplicables.

Expérience n° 11. — Sérum de cheval normal. Manipulé à l'air libre comme précédemment, mais l'espace libre au-dessus du liquide dans les tubes scellés a été réduit considérablement et ne dépasse pas 0,2 cc., avec de légères variations d'une ampoule à l'autre.

Electrode N° 1		Electrode N° 3		Electrode N° 4	
température en degrés	pH	température en degrés	pH	température en degrés	pH
—	—	—	—	—	—
20. .	7,700	20. .	7,600	20. .	7,690
45. .	7,690	61. .	7,690	55. .	7,700
50. .	7,690	66. .	7,782		
60. .	7,660				

malgré les réserves faites plus haut. Il ne faut considérer la troisième décimale que comme indicatrice d'excès ou de défaut, et non comme ayant une valeur absolue. Cependant, dans le troisième groupe d'expériences, on verra que la précision dépasse la seconde décimale, et que l'on peut en tenir compte en tant que valeurs relatives.

Il est inutile de publier les résultats des 12 séries de mesures effectuées, car l'on voit immédiatement par cette dernière série (Exp. n° 11) que : 1° les fluctuations sont devenues beaucoup moins importantes et que 2° la tendance à l'alcalinisation est presque supprimée (électrode n° 4) et même remplacée par une faible indication contraire (électrodes 1 et 3). Cette indication suffit à faire penser que les irrégularités des mesures précédentes et peut-être même l'alcalinisation, étaient dues à la perte de CO_2, variable suivant les dimensions de l'espace libre au-dessus du sérum dans les ampoules. On entreprit donc une nouvelle série d'expériences destinées à confirmer ou à infirmer cette opinion.

Deuxième groupe d'expériences. — Dans ce groupe, le sérum était manipulé à l'air libre, mais en tubes scellés ne présentant pas ou peu d'espace libre au-dessus du liquide. Il nous suffira de citer une seule série d'expériences effectuées d'ailleurs au moyen de quatre électrodes différentes, ce qui constitue en somme quatre expériences.

Expériences n° 14. — Sérum de cheval normal. Mesures à 20°.

Electrode n° 1

température en degrés	pH
20	7,782
45	7,805

Electrode n° 2

température en degrés	pH
20	7,787
50	7,805
55	7,795

Electrode n° 3

température en degrés	pH
20	7,782
60	7,790

Electrode n° 4

température en degrés	pH
20	7,798
63	7,765
66	7,795

Ces mesures montrent clairement :

1° Que si l'espace libre est réduit au minimum, les fluctuations sont nettement diminuées, les écarts entre les valeurs à 20° sont faibles (les trois premières électrodes donnent des valeurs

coïncidant à 5/1.000 près, la quatrième seule présentant un écart de 16/1.000) et, 2° qu'il est impossible de conclure à une alcalinisation ou à une acidification, les différences étant trop petites ou n'étant pas constantes.

Ce qui précède explique la discordance des résultats publiés par d'autres auteurs, et impose la nécessité de se placer dans des conditions plus rigoureuses en ce qui concerne la manipulation du sérum, avant la mesure. Nous avons donc effectué un troisième groupe d'expériences en manipulant le sérum sous huile de vaseline neutre, sans contact avec l'air, et en scellant les ampoules sans espace libre. Les mesures furent effectuées avec du sérum de cheval (Exp. 15 à 31, et 49 à 55), de bœuf (Exp. 42 et 45) et de mouton (Exp. 41 et 44).

Expérience n° 15 :

Electrode	pH					
	20°	45°	50°	55°	60°	63°
N° 1	7,695	7,702	7,697	»	7,650	»
N° 2	7,695	»	»	»	»	»
N° 3	7,700	»	»	»	»	7,671
N° 4	7,702	»	»	7,695	»	»

On remarque que les valeurs à 20° coïncident à mieux que ± 0,004 près pour les quatre électrodes, ce qui est beaucoup plus satisfaisant et permet, au besoin, d'interchanger les électrodes puisque les écart entre les valeurs absolues du point de départ ne sont pas supérieures à la valeur admise des erreurs d'expérience.

Mais on remarque surtout la constance du pH pour toutes les températures sauf 60°, température à laquelle la différence atteint 0,045 pH, *vers l'acidité*. On retrouvera ce phénomène *dans toutes les séries suivantes*, avec parfois un abaissement progressif à partir de 54°.

Expérience n° 17 :

Electrode	pH						
	20°	45°	50°	58°	60°	62°	64°
N° 1	7,815	7,805	»	»	»	7.760	»
N° 2	7,833	»	7,822	»	7,790	»	»
N° 3	7,815	»	»	7,795	»	»	7,790
N° 4	7,833	»	»	»	»	»	»

Expérience n° 17.

Dans cette expérience, les écarts entre les valeurs initiales sont dus, non à l'électrode d'hydrogène, mais aux électrodes au calomel. Correction faite, la différence est réduite à 0,008 pH.

Expérience n° 20. — Sérum de cheval normal. Chauffé dix minutes.

Electrode	pH 20°	45°	50°	58°	60°	62°	64°
N° 1	7,730	»	7,720	»	»	»	»
N° 2	7,730	7,725	»	»	»	»	»
N° 3	7,730	»	»	7,705	7,700	»	»
N° 4	7,730	»	»	»	»	7.685	7,785

Expérience n° 23. — Sérum de cheval. Chauffé dix minutes.

Electrode	pH 20°	50°	55°	60°	62°	63°	64°
N° 1	7,810	»	»	7.757	7,782	»	7,773
N° 2	7,820	7,810	7,820	»	7,783	»	»
N° 3	7,810	7,805	7,800	»	»	7,770	»

Expérience n° 26. — Sérum de cheval normal. Chauffé dix minutes.

Electrode	pH 20°	53°	55°	57°	59°	61°	63°	65°
N° 1 . .	7,637	7,618	7,608	»	7,564	»	»	»
N° 2 . .	7,637	»	»	7,590	7.564	»	7,583	»
N° 3 . .	7,634	»	7,608	»	»	7,571	»	7,605

Expérience n° 27. — Sérum de cheval normal. Chauffé dix minutes.

Electrode	pH 20°	54°	56°	58°	60°	61°	62°	64°
N° 2 . .	7,613	»	»	»	»	7,566	7,545	»
N° 3 . .	7,615	7,605	7,598	»	»	»	»	7,575
N° 4 . .	7,615	»	»	6,575	7.566	»	»	»

Expérience n° 49. — Sérum de cheval normal. Chauffé dix minutes.

Electrode	pH								
	20°	54°	56°	58°	59°	60°	62°	64°	66°
N° 1. . .	7,730	»	7.702	»	»	7,692	»	»	»
N° 2. . .	7,725	7,725	7,718	»	»	»	7,682	»	»
N° 3. . .	7,730	»	»	7,696	7,692	»	»	7,673	»
N° 4. . .	7,730	»	»	»	7,685	»	»	»	7,677

Expérience n° 55. — Sérum de cheval normal. Chauffé dix minutes.

Electrode	pH						
	20°	55°	57°	59°	61°	63°	65°
N° 1 . .	7,543	»	»	7,480	»	»	7,475
N° 2 . .	7,536	7,523	»	»	»	»	»
N° 4 . .	7,540	»	7,523	»	7,463	7,445	»

On voit par ces deux séries d'expériences qu'il arrive parfois que la diminution dans la valeur du pH commence plus tôt, à 55° et à 56°. Le fait est peu fréquent. On voit aussi que le *minimum* peut être déplacé jusqu'à 63° ou 64°. Néanmoins, dans la grande majorité des cas, la valeur minima est atteinte avant 62°.

Expérience n° 42. — Sérum de bœuf (abattoirs). Chauffé dix minutes.

Electrode	pH								
	20°	54°	56°	58°	60°	62°	64°	66°	68°
N° 1 . .	7,620	»	7,617	»	7,592	»	7.550	»	7,573
N° 2 . .	7,615	»	»	7,598	»	»	»	7,568	»
N° 3 . .	7,598	7,620	»	»	»	7,550	»	»	»
N° 4 . .	7,605	»	7,600	»	»	»	7,562	»	»

Expérience n° 44. — Sérum de mouton (abattoirs). Chauffé dix minutes.

Electrode	pH							
	20°	56°	58°	60°	62°	64°	66°	68°
N° 1	7,825	7,815	»	»	7,770	»	»	»
N° 2	7,832	7,825	»	»	»	»	7,748	7,742
N° 3	3,832	»	7.810	»	»	7.748	»	»
N° 4	7,837	»	»	7,785	»	»	»	7,753

Ces exemples suffisent pour montrer que : 1° en manipulant le sérum à l'abri de l'air sous huile de paraffine, on obtient avec différents échantillons du même sérum et différentes électrodes des valeurs concordant à mieux que 1/100 près ; 2° qu'il se produit, par chauffage de dix minutes seulement *un minimum de pH*, donc une *acidité*, généralement entre 59° et 62°, et que cette acidification faible a une valeur moyenne de l'ordre de 0,05 *p*H (les extrêmes étant 0,03 et 0,07) de beaucoup supérieure aux erreurs possibles d'expériences. Cette acidité correspond à peu près à une augmentation moyenne de 13 % de la concentration des ions hydrogène ; et 3° que ce minimum est souvent suivi d'une augmentation du *p*H, aux températures voisines de celle de la coagulation (66°).

Le sérum de bœuf et le sérum de mouton fournissent des résultats semblables.

Influence du temps de chauffage. — Le temps de chauffage ne paraît pas jouer un rôle important, pas plus que pour les autres phénomènes physiques précédemment décrits. Tout au plus, avec un chauffage d'une heure, avons-nous observé le minimum à 58°, c'est-à-dire un peu plus tôt. Mais l'amplitude de la chute n'avait pas varié sensiblement (0,071).

Expérience n° 39. — Sérum de cheval normal. Chauffé pendant une heure.

	pH					
Electrode	20°	52°	56°	58°	60°	coag. à 62°
—	—	—	—	—	—	—
N° 1	7,513	7,502	»	»	»	»
N° 3	7,513	»	7,475	7,442	7,471	»
N° 4	7,513	»	»	7,451	»	»

Le phénomène décrit ci-dessus, c'est-à-dire l'acidification légère du sérum chauffé entre 58° et 62° est affecté par la valeur du *p*H originel du sérum. En d'autres termes, si l'on acidifie le sérum *avant chauffage*, même légèrement, à *p*H 6,80 par exemple, il ne se produit presque plus ou plus d'abaissement du *p*H après chauffage, comme le montrent les expériences suivantes. Dans certains cas, on constate même une légère alcalinisation (Exp. P. 94 et P. 109).

Expérience P. 94. — Sérum de cheval normal.

Echantillon A, (25 cent. cubes) acidifié par courant de CO_2 pendant 8 minutes puis recouvert d'huile de vaseline. Chauffé 10 minutes en tube scellé. Température de la mesure : 20°.

	pH
20°	6,710
60°	6,715
Différence	+ 0,005

Echantillon B, (témoin) simplement maintenu sous huile neutre, chauffé et mesuré dans les mêmes conditions.

	pH
20°	7,643
60°	7,580
	— 0,063

Expérience P. 109. — Sérum de cheval.

A. Acidifié par courant de CO_2, pendant 10 minutes. Chauffage et mesure comme ci-dessus.

	pH
20°	6,760
60°	6,764
Différence	+ 0,004
20°	6,748
60°	6,748
Différence	0,000

B. Témoin.

	pH
20°	7,667
60°	7,623
	— 0,044
20°	7,667
60°	7,615
	— 0,052

Afin d'étudier le phénomène sur une plus grande échelle de *p*H nous avons acidifié le sérum au moyen d'une solution normale d'acide chlorhydrique, de la façon suivante : à un volume de 9,9 ; 9,8 ; 9,7 ; 9,5 cent. cubes de sérum, on ajoutait 0,1 ; 0,2 ; 0,5 cent. cubes de solution HCl/N, pour ramener à 10 cent. cubes. Nous avons ainsi confirmé le fait signalé par Sörensen *(loc. cit.)* qu'un sérum dont le pH a été ramené à 4,78 (9,5 cent. cubes sérum + 0,5 cc. HCl/N) coagulait à 60°. Nous avons donc été forcés de ne pas acidifier autant. Aux environs de *p*H 5,4, le sérum ne coagulait plus après chauffage à 60°, mais nous avons constaté, comme nous l'avons signalé plus haut, que le chauffage déterminait une très légère alcalinisation, au lieu de l'acidification observée sur le sérum normal non acidifié préalablement. En d'autres termes, un sérum chauffé dix minutes à 60°, puis refroidi présente soit une acidification légère, soit une alcalinisation légère (l'une et l'autre de l'ordre de 0,05 *p*H) *suivant que le p*H *initial du sérum était alcalin ou acide.* Vers *p*H 6,90 les courbes

se rencontrent, et il n'y a ni acidification ni alcalinisation, ou tout au moins si elles existent, elles sont d'un ordre de grandeur égal à celui des erreurs d'expérience (Exp. P. 153).

Expérience P. 153 :

		HCl N ajouté pour cent				
		1	2	3	4	
Sérum témoin (non chauffé)	7,19	6,90	6,38	5,98	5,38	pH
Sérum chauffé à 60°	7,15	6,90	6,41	6,00	5,43	pH
Différence en pH .	−0,04	0,00	+0,03	+0,02	+0,05	

Le même phénomène se produit avec le sérum dilué et l'amplitude des variations est du même ordre. Comme on le voit, le phénomène est petit, mais régulier.

Sérum dilué. — Comme il n'est pas facile de suivre l'alcalinisation après 66° à cause de la coagulation, et comme, d'autre part, il était intéressant de savoir si vraiment le minimum du *p*H à 60° était suivi d'une remontée, nous avons dilué le sérum avec des quantités variables de solution physiologique à 0,9 % et avec une solution de KCl à 9,525 °/₀₀.

Nous avons constaté, dans ces conditions, une acidification plus marquée, débutant aux environs de 54°, mais nous n'avons pas observé d'une façon régulière l'augmentation du *p*H aux températures supérieures à 62°. Le minimum était généralement atteint à une température plus élevée que dans le sérum non dilué et variable d'un échantillon à l'autre (Exp. n°s 32, 33 et 50).

Expérience n° 32. — Sérum de cheval dilué à volume égal de KCl isotonique.

	pH				
Electrode	20°	54°	60°	68°	70°
—	—	—	—	—	—
N° 2	7,762	»	7,668	7,623	»
N° 3	7,762	7,722	»	»	7,595

Expérience n° 33. — Sérum de cheval dilué à volume égal de KCl isotonique.

	pH								
Electrode	20°	54°	56°	60°	62°	64°	66°	69°	72°
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
N° 1 . .	7,731	7,720	»	»	7,670	7,655	»	»	»
N° 2 . .	7,748	»	7,704	»	»	»	»	»	»
N° 3 . .	7,725	»	7,670	»	»	»	7,661	»	7,655
N° 4 . .	7,712	»	»	7,683	»	»	»	7,670	»

Expérience n° 50. — Sérum de cheval dilué au 1/8 (1 cent. cube sérum + 7 cent. cubes NaCl isotonique).

	pH				
Electrode	20°	55°	75°	85°	100°
—	—	—	—	—	—
N° 1	7,635	»	7,530	»	»
N° 3	7,635	7,633	»	7,555	7,566

En se basant sur ces expériences faites avec le sérum dilué et sur un assez grand nombre d'autres qui donnèrent des résultats analogues, il est impossible de tirer une conclusion au sujet de ce qui se passe dans le sérum pur au-dessus de 62°. Les phénomènes, par suite de la dilution, sont probablement très différents. On peut admettre, par conséquent, que le sérum chauffé aux environs de 60° présente un minimum de *p*H, parfois suivi d'une remontée vers l'alcalinité. L'interprétation de ce fait est très difficile pour le moment.

Pouvoir tampon du sérum. — Nous nous sommes demandé si cette acidification n'était pas corrélative d'une diminution du pouvoir tampon du sérum consécutive au chauffage. Nous avons, dans le but de répondre à cette question, effectué des séries de mesures en ajoutant des quantités variables de HCl et de NaOH à des sérums non chauffés et chauffés. Le résultat de ces expériences est exprimé par la figure 79. Sur la figure 78, nous avons indiqué, à côté du pouvoir tampon du sérum chauffé, le pouvoir tampon de la solution de Michaëlis et la diagonale représente les valeurs prises par l'eau (tampon = 0) par addition des mêmes quantités d'acide ou d'alcali. La figure 79 montre bien que le pouvoir tampon du sérum n'est pas modifié par la chaleur. Par contre, on voit clairement l'effet dû au chauffage qui déplace

toute la courbe vers l'acidité. On voit également que le sérum est mieux tamponné du côté acide que du côté alcalin.

En résumé, le sérum sanguin, manipulé avec précautions de façon à limiter la perte de CO_2 au minimum, présente, lorsqu'il

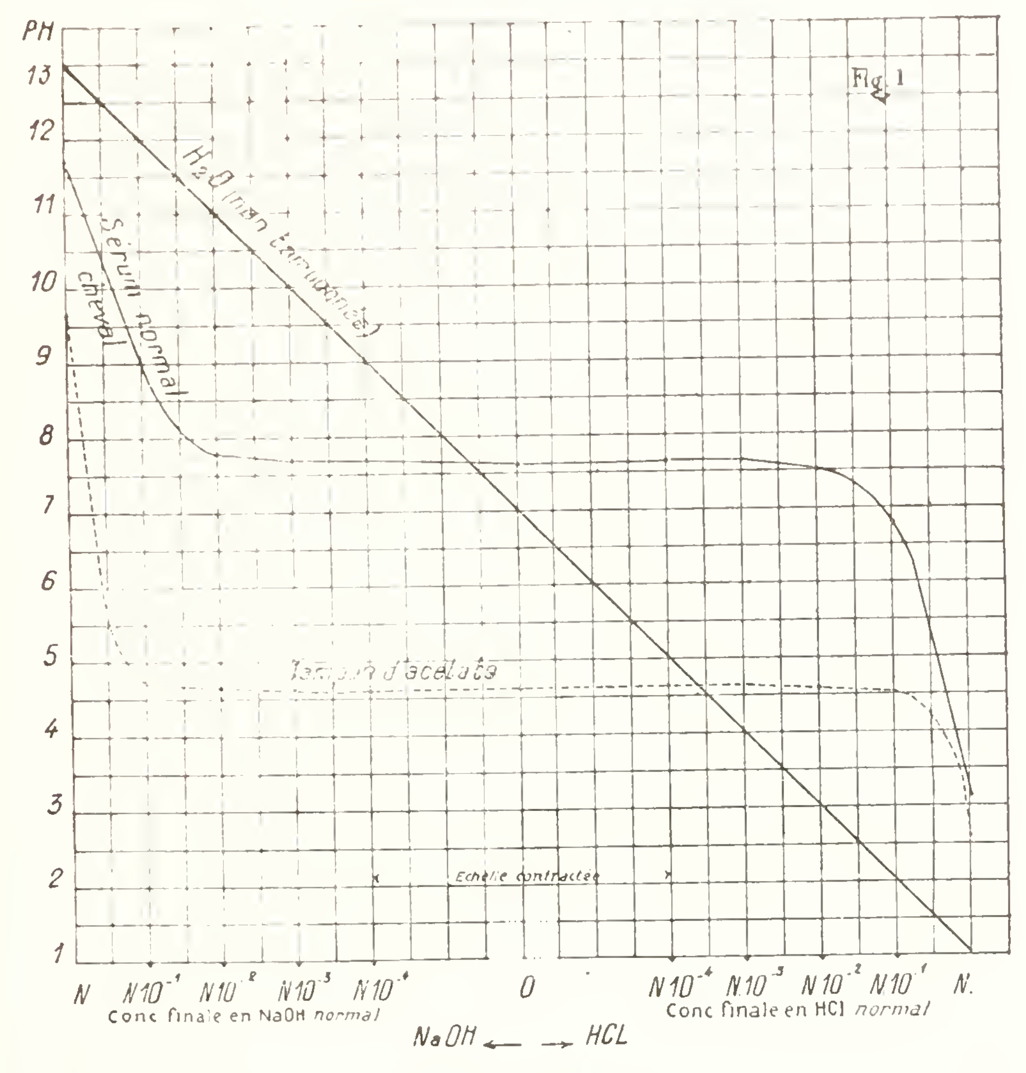


Fig. 78. — Pouvoir tampon comparé du sérum de cheval et de la solution tampon d'acétate.

est chauffé même pendant dix minutes seulement, un minimum de *p*H c'est-à-dire une acidité maxima, vers 60°. Jusqu'à 56°, la valeur du *p*H est sensiblement constante, mais on constate souvent le début de l'acidification à partir de cette température.

Ce phénomène est constant, mais de faible amplitude : la valeur *moyenne* de la chute étant de 0,05. Au delà de 60° ou 62°, on constate quelquefois une remontée du *p*H (alcalinisation) qui ramène sa valeur au niveau ou même au-dessus de sa valeur

primitive. Ces phénomènes ne peuvent être observés qu'à condition d'empêcher toute perte de CO_2 avant, pendant et après le chauffage.

L'alcalinisation trouvée par certains auteurs était donc due

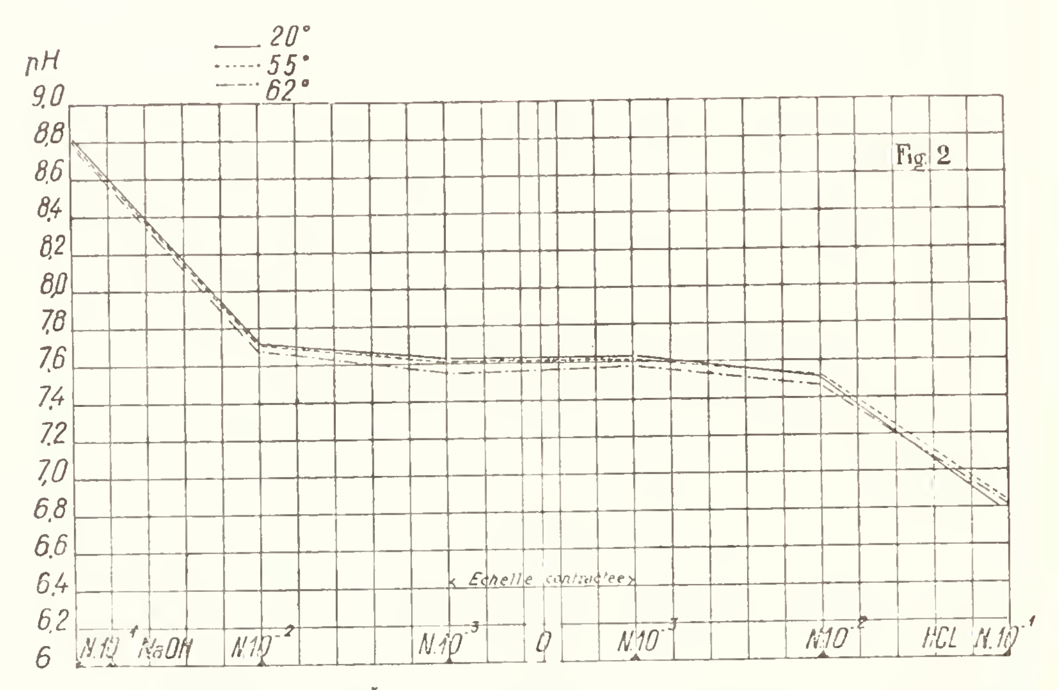


FIG. 79. — Pouvoir tampon du sérum non chauffé 20° et chauffé dix minutes à 55° et 62°. Concentration des solutions NaOH ou HCl ajoutées au sérum. Cent. cube solution NaOH ou HCl (normal) ajouté à 9 cent. cubes sérum pur.

à la perte de CO_2 qu'ils ne songeaient pas à éviter. Les auteurs qui conclurent à l'absence de variation par chauffage disposaient d'une technique plus rigoureuse mais d'une méthode de mesure qui n'était, ou pas assez sensible ou pas assez fidèle.

Lorsque le sérum est dilué au moyen de solution isotonique, on observe les mêmes phénomènes. La chute est plus marquée et débute généralement vers 55°, pour aboutir progressivement au minimum. Au delà de 60°, les valeurs du *p*H oscillent autour de la valeur minima et présentent rarement une tendance vers l'alcalinisation.

Ce phénomène caractérise le sérum normal ayant un *p*H compris entre 7,20 et 7,80 (à 20°). Si le *p*H du sérum est abaissé vers 6,80 ou 6,90 avant le chauffage, l'amplitude du phénomène diminue considérablement et tend vers 0. A des valeurs plus grandes de l'acidité (jusqu'à 5,4 par exemple) le phénomène est inversé

et l'on observe une alcalinisation par suite du chauffage à 60°, de même amplitude moyenne que le phénomène précédent, soit 0,05 *p*H. Les courbes représentant les variations du *p*H de deux échantillons du même sérum en fonction des quantités d'acide ajoutées, l'un chauffé à 60° et l'autre non chauffé, se coupent donc vers *p*H 6,85.

Le chauffage à 62° ne modifie pas le pouvoir tampon du sérum.

Ce phénomène s'ajoute donc à la liste de ceux que nous avons déjà décrits, et qui caractérisent la température critique du sérum et la destruction de l'alexine par la chaleur.

TABLE DES MATIÈRES

Imp. G. Thone, Liège (Belgique)



ACTUALITÉS SCIENTIFIQUES ET INDUSTRIELLES

PUBLIÉES SOUS LA DIRECTION DE MM.

Marcel PRENANT
Professeur à la Sorbonne
I. BIOLOGIE ÉCOLOGIQUE
II. LEÇONS DE ZOOLOGIE

A. REY
Professeur à la Sorbonne
HISTOIRE DES SCIENCES

Y. ROCARD
Maître de Recherches
THÉORIES MÉCANIQUES (Hydrodynamique-Acoustique)

R. SOUEGES
Chef de Travaux à la Faculté de Pharmacie
EMBRYOLOGIE ET MORPHOLOGIE VÉGÉTALES

TAKAGI
Professeur à l'Université Impériale de Tokio
MATHÉMATIQUES GÉNÉRALES

TAMIYA (HIROSHI)
Membre du Tokugawa Biologisches Institut-Tokio
BIOLOGIE (Physiologie cellulaire)

A. TCHITCHIBABINE
Membre de l'Académie des Sciences de l'U. R. S. S.
CHIMIE ORGANIQUE (Série hétérocyclique)

Georges TEISSIER
Sous-directeur de la Station Biologique de Roscoff
BIOMÉTRIE ET STATISTIQUE BIOLOGIQUE

G. URBAIN
Membre de l'Institut
Professeur à la Faculté des Sciences de Paris
THÉORIES CHIMIQUES

Pierre URBAIN
Maître de Conférences à l'Institut d'Hydrologie et de Climatologie de Paris
GÉOCHIMIE

L. VERLAINE
Professeur à l'Université de Liège
PSYCHOLOGIE ANIMALE

P. WEISS
Membre de l'Institut
Directeur de l'Institut de Physique de l'Université de Strasbourg
MAGNÉTISME

R. WURMSER
Directeur du Laboratoire de Biophysique de l'Ecole des Hautes Etudes
BIOPHYSIQUE

ACTUALITES SCIENTIFIQUES ET INDUSTRIELLES

Série 1936 (suite).

388. Actes du Congrès International de Philosophie scientifique. I. Philosophie scientifique et empirisme logique . . . . . 12 fr.
389. Id. II. Unité de la Science . . . . . 12 fr.
390. Id. III. Langage et pseudo-problèmes . . . . . 10 fr.
391. Id. IV. Induction et probabilité . . . . . 10 fr.
392. Id. V. Logique et expérience . . . . . 12 fr.
393. Id. VI. Philosophie des Mathématiques . . . . . 12 fr.
394. Id. VII. Logique . . . . . 10 fr.
395. Id. VIII. Histoire de la logique et de la Philosophie scientifique . . . . . 12 fr.
396. Erich Heymann. The sol-gel transformation . . . . . 15 fr.
397. H. G. Bungenberg de Jong. La coacervation et son importance en biologie, tome I. Généralités et coacervats complexes . . . . . 12 fr.
398. Id. La coacervation et son importance en biologie, tome II. Coacervats autocomplexes . . . . . 15 fr.
399. R. Freymann. Les ondes hertziennes et la structure moléculaire. I. Méthodes d'étude du spectre hertzien . . . . . 10 fr.
400. Id. Les ondes hertziennes et la structure moléculaire. II. Absorption et dispersion dans le spectre hertzien. Applications . . . . . 15 fr.

Imp. G. Thone, Liège (Belgique)




ACTUALITÉS SCIENTIFIQUES ET INDUSTRIELLES

403

BIOPHYSIQUE MOLÉCULAIRE

Exposés publiés sous la direction de

P. LECOMTE DU NOÜY

Chef de Service à l'Institut Pasteur

III

LA TEMPÉRATURE CRITIQUE DU SÉRUM

III

FIXATION D'ETHER-TENSION INTERFACIALE ET SPECTRE D'ABSORPTION ULTRA-VIOLET

PAR

P. LECOMTE DU NOÜY



PARIS

HERMANN & CIE, ÉDITEURS

6, Rue de la Sorbonne, 6

1936






ACTUALITÉS SCIENTIFIQUES ET INDUSTRIELLES

403

BIOPHYSIQUE MOLÉCULAIRE

Exposés publiés sous la direction de

P. LECOMTE DU NOÜY

Chef de Service à l'Institut Pasteur

III

LA TEMPÉRATURE CRITIQUE DU SÉRUM

III

FIXATION D'ETHER-TENSION INTERFACIALE ET SPECTRE D'ABSORPTION ULTRA-VIOLET

PAR

P. LECOMTE DU NOÜY



PARIS

HERMANN & CIE, ÉDITEURS

6, Rue de la Sorbonne, 6

—

1936

CHAPITRE X

La fixation d'éther par le sérum, en fonction de la température. Parallélisme avec le « pouvoir complémentaire »

Jusqu'ici, la parenté existant entre les phénomènes que nous avons décrits et la destruction du complément n'est basée que sur l'existence d'une cause commune : le chauffage à une certaine température. Mais cette parenté ne nous renseigne pas sur la nature du phénomène biologique lui-même. Nous constatons, simultanément, l'apparition d'un certain nombre de phénomènes de nature différente, consécutifs à un traitement du sérum ne comportant qu'une variable. Nous en concluons logiquement, comme nous avons le droit de le faire, qu'une corrélation existe entre tous les effets observés et que l'effet biologique est lié aux phénomènes chimiques (structuraux) et physico-chimiques, par une relation de cause à effet. Ici nous ne pouvons qu'émettre une hypothèse — plausible il est vrai, — mais non démontrée. La démonstration absolue en serait difficile. Cependant, devant l'ensemble important de modifications physico-chimiques et structurales que nous avons signalées, l'hypothèse la plus simple est celle que nous avons choisie : il serait presque incompréhensible que ces altérations profondes n'eussent aucun écho dans les réactions biologiques, et l'existence mythique de cette entité insaisissable : le complément, ressemble trop à celle du phlogistique pour que l'on ne fasse pas tous ses efforts pour la détruire.

Notre seule ressource était donc d'essayer de trouver un paral-

lélisme de plus en plus complet entre certains phénomènes physico-chimiques et le phénomène biologique, dans l'espoir d'arriver à éclairer le mécanisme de ce dernier.

Un de mes collaborateurs, M. Franz Seelich, travaillant à mes

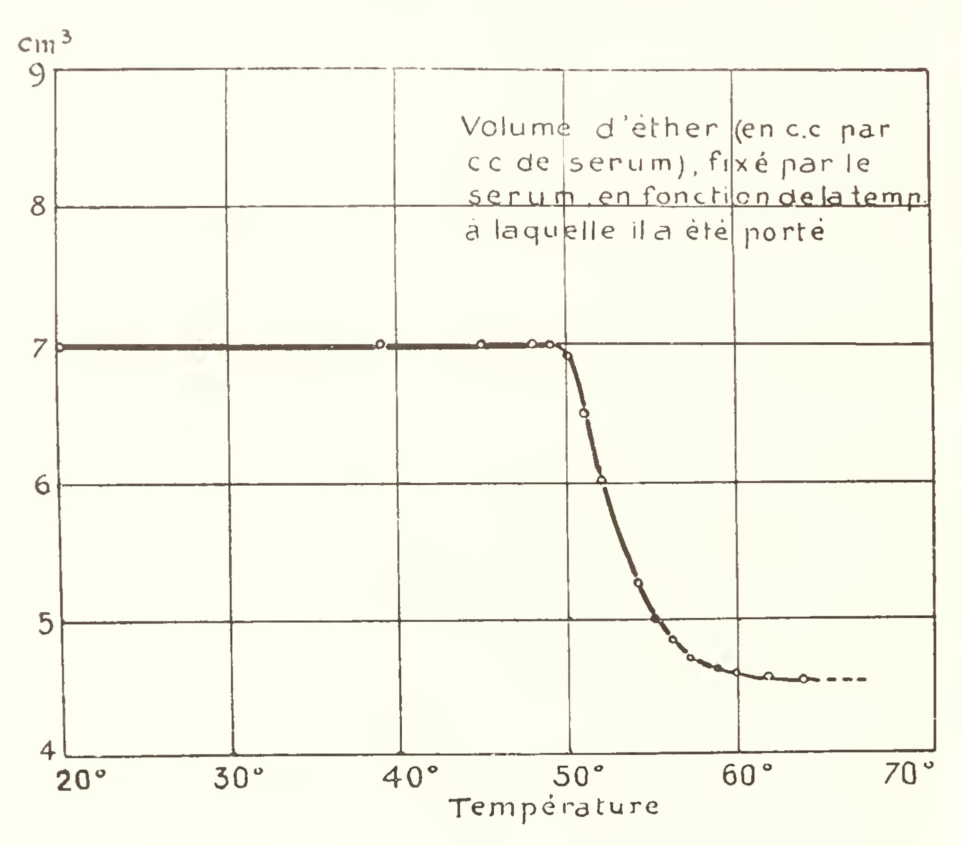


Fig. 80. — Concentration du sérum pour cent (dilué dans solution de Normosal).

côtés et, naturellement, dans le même sens, découvrit une série de nouveaux phénomènes que nous allons rapidement décrire [1].

Il s'aperçut que le sérum normal non chauffé est capable de fixer une quantité considérable d'éther (700 %) à condition que l'addition d'éther se fasse par petites quantités et que le vase soit continuellement et énergiquement secoué. Dans ce cas, le sérum devient de plus en plus visqueux et finit par se solidifier en un gel transparent. Au delà de 700 %, l'éther n'est plus fixé. L'addition de quelques gouttes en excès détermine, sous l'influence de l'agitation, une rupture du gel en fragments avec exsudation d'une partie de l'éther fixé préalablement. Le point de saturation est

(1) Seelich, F., *C. R. Soc. Biol.*, **110**, pp. 794 et 922 (1932). *Ann. Inst. Pasteur*, **52**, p. 540, 1934. *Biochem. Zeitschr.*, **273**, p. 135, 1934.

aussi bien défini que dans une titration à 5 % près. Quand le sérum a ainsi fixé le maximum d'éther, le gel est instable et l'exsudation de l'éther commence aussitôt que l'agitation cesse. Après l'élimination de l'éther provenant de l'exsudation, on peut le fixer à nouveau en l'ajoutant par petites quantités. Il s'agit donc d'un phénomène réversible et quantitatif. Le sérum, chauffé à 50°, se comporte comme s'il n'avait pas été chauffé. Mais s'il est porté pendant 10 minutes à une température supérieure à 50°, la quantité d'éther pouvant être fixée diminue en fonction de la température à laquelle le sérum a été porté, jusqu'à 58°, après quoi elle redevient constante. Le sérum chauffé à 58° fixe une quantité d'éther à peu près égale aux 2/3 de la quantité fixée par le sérum non chauffé, soit 4,5 cc. au lieu de 7 cc. A partir de 64°, les valeurs ne sont plus régulières, probablement à cause de l'accroissement de la viscosité. L'allure générale du phénomène est représentée par la figure 80. Les points de la courbe expriment les valeurs moyennes de trois expériences.

Ce phénomène est très remarquable à cause de la constance quantitative des résultats. Un centimètre cube de sérum fixe toujours la même quantité d'éther à 2 ou 3 dixièmes de centimètre cube près. Seelich estime qu'il s'agit simplement là d'une émulsion. Ses expériences sur la fixation d'éther par des solutions de sels biliaires et d'oléate de soude (*Ann. Inst. Pasteur*, 1934) semblent confirmer cette façon de voir.

Dans son premier mémoire, il proposait une explication de ce phénomène basée sur l'orientation des molécules, mais ses travaux ultérieurs l'amenèrent à abandonner cette hypothèse. Il semble bien que l'on puisse expliquer ces phénomènes en s'appuyant simplement sur ce que l'on sait des émulsions instables.

Poursuivant ses expériences, Seelich observa que la dilution du sérum non chauffé avait pour effet d'augmenter légèrement sa capacité totale de fixation d'éther. Par exemple, 0,5 cc. de sérum fixe 3,5 cc. d'éther. Si l'on ajoute 0,5 cc. d'eau, la quantité d'éther fixée sera égale à 7 cc., comme si l'on avait agi sur 1 cc. de sérum. Mais l'accroissement de capacité dû à 0,5 cc. d'eau reste le même si on l'ajoute à 1 cc. de sérum, c'est-à-dire que 1 cc. de sérum + 0,5 d'eau fixeront 7 + 3,5 = 10,5 cc. d'éther. L'eau distillée et la solution physiologique de NaCl agissent de la même façon. Si l'on ajoute 0,5 cc. d'eau à 0,5 cc. de sérum préalablement chauffé

(10 min. à 57°), on observe la même augmentation de 3,5 cc. d'éther, soit 2,25 + 3,5 = 5,75 cc.

On se demanda ensuite si l'addition de sérum frais n'aurait pas un effet plus marqué : l'expérience confirma cette hypothèse. Dans le but de rechercher jusqu'à quel point le parallèle se maintenait entre le phénomène en question et celui de la destruction de l'alexine par la chaleur, suivie de « réactivation » par addition de très faibles quantités de sérum frais, on diminua la quantité de sérum frais ajouté, et on constata qu'il suffit d'ajouter une goutte (d'environ 0,05 gr.) de sérum frais à 1 cc. de sérum chauffé pendant 10 minutes à 57°, pour réactiver presque totalement le sérum et faire passer sa capacité de fixation d'éther de 4,5 cc. à une valeur très proche ou égale à 7 cc. (entre 6,5 et 7,0). Il y a donc là un nouvel effet, indépendant — au-dessus d'une certaine valeur limite minima — du volume du sérum ajouté et dépendant uniquement des propriétés du sérum frais.

Le parallélisme entre les deux phénomènes — biologique et physico-chimique — est assez net. Malheureusement, jusqu'ici, le mécanisme du phénomène physico-chimique est aussi mal connu que l'autre, et ne peut encore être utilisé pour une explication.

Ces faits sont très intéressants. Pour la première fois, nous possédons un modèle physique qui fonctionne comme le phénomène biochimique. Seelich put montrer encore qu'un sérum chauffé pendant 10 minutes à une température supérieure à 50° (entre 50° et 60°) et traité ensuite avec du CO_2 (en laissant passer un faible courant de gaz carbonique pendant dix minutes) présente une augmentation du nombre d'éther tandis que le nombre d'éther du sérum frais ne change pas après ce traitement.

C'est évidemment le changement de l'équilibre ionique du sérum qui entraîne une augmentation du pouvoir émulsionnant. Etant donné que le sérum est tamponné par des carbonates, des phosphates et des protéines, il suffit de changer légèrement la concentration des ions H^+ pour provoquer un changement complet de cet équilibre. Mais, comme on ne connaît pas les facteurs qui déterminent le mécanisme de l'émulsification, il n'est pas possible de préciser la cause directe de l'augmentation du pou-

voir émulsionnant du sérum chauffé en fonction des traitements indiqués plus haut.

Nous avons ainsi montré que le chauffage du sérum à une température qui affaiblit ou détruit le pouvoir alexique du sérum diminue aussi le pouvoir émulsionnant de ce dernier.

Tableau XXXII

Différentes solutions salines utilisées pour diluer le sérum

	NaCl 8,5 p. 1000		Ringer (sans bicarbonate)		Tyrode (carbonaté)		Tyrode (traité par l'air)		Normosal (carbonaté)	
Volume de sérum dilué à 1,40 . . .	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2
Volume de la solution saline ajoutée	0,9	0,8	0,9	0,8	0,9	0,8	0,9	0,8	0,9	0,8
Volume constant de suspension de globules de mouton 5 p. 100 (sol. phys. NaCl)	0,5	0,5	5,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Hémolyse après 30 minutes à 38° . .	0	Très faible	0	Très faible	Faible	Complète	Très faible	Forte	Faible	Complète

Nous avons employé ; 1° sérum de cobaye frais ; 2° globules rouges de mouton lavés et dilués à l'aide d'une solution NaCl 8,5 p. 1.000 ; 3° sérum de lapin antimouton (Labpasteur, à diluer 50 fois).

Sensibilisation : 1 goutte de ce sérum sur 10 cent. cubes d'une suspension de globules rouges de mouton à 5 p. 100.

Il était dès lors intéressant de voir si les facteurs qui *augmentent le pouvoir émulsionnant du sérum* n'auraient pas pour effet d'*accroître aussi le pouvoir alexique*. Dans les expériences faites pour vérifier cette hypothèse, on dut renoncer à traiter le sérum chauffé par le gaz carbonique puisqu'un excédent de celui-ci empêche l'hémolyse et l'on se borna à mesurer le pouvoir alexique d'un sérum de cobaye donné, en fonction des différentes solutions salines employées à sa dilution et dont la concentration en ions H était plus ou moins élevée suivant leur teneur en bicarbonate et en CO_2.

Seelich constata ainsi qu'un sérum chauffé pendant dix minutes à 56° n'entraîne plus trace d'hémolyse si on le dilue à

l'aide d'une solution fraîchement préparée de NaCl isotonique à 8,5 °/₀₀, tandis qu'en le diluant à l'aide d'une solution de Tyrode (carbonatée) ou de normosal (¹) on peut encore observer une hémolyse faible (Tableau XXXII).

Le pouvoir alexique d'un sérum frais, dilué à l'aide d'une solution de NaCl de 9 ‰ ou d'une solution de Ringer est nettement inférieur à celui d'une dilution analogue à l'aide d'une solution de Tyrode ou de normosal, contenant du bicarbonate.

Un sérum frais, dilué à l'aide d'une solution de Tyrode à travers laquelle on fait passer un courant d'air pendant vingt minutes et dont la teneur en bicarbonate et la concentration en ions H^+ a diminué par transformation du bicarbonate en carbonate, montre une hémolyse plus faible que le sérum dilué à l'aide d'une solution de Tyrode non traitée.

Il faut mentionner aussi à ce sujet les observations anciennes de L. et P. von Liebermann (²) et A. Lumière (³) qui a trouvé que le pouvoir alexique du sérum, séparé du sang veineux, est beaucoup plus fort que celui du sang artériel, moins riche en CO_2.

Si on fait la comparaison des phénomènes biologiques de l'activité alexique avec le pouvoir émulsionnant du sérum, on s'aperçoit que les mêmes causes entraînent des changements dans le même sens :

1° Destruction de l'alexine après chauffage à une température au-dessus de 55° ;

2° Abaissement du pouvoir alexique avec le temps ;

3° Influence de la teneur en Na-bicarbonate et en CO_2 des solutions servant pour diluer du sérum frais ou chauffé à 56° sur l'activité alexique, dans le sens d'une augmentation de cette dernière.

1° Abaissement du nombre d'éther après chauffage à la même température ;

2° Abaissement du nombre d'éther avec le temps ;

3° Influence du bicarbonate de soude et du gaz carbonique sur le nombre d'éther dans le sens d'une augmentation de ce dernier.

Il semble donc possible d'admettre que le pouvoir émulsionnant du sérum dépende des mêmes mécanismes qui conditionnent — au moins en partie — son activité alexique. Or il est évi-

(¹) Solution isotonique, préparée par le « Sächsisches Serumwerk, A. G. Dresden », et contenant les ions Na, K, Ca et Mg, sous forme de bicarbonate, phosphate et chlorure.

(²) *Arch. für Hyg.*, **62**, 1907, p. 318.

(³) *C. R. de l'Acad. des Sciences*, **1**, 1928, p. 1651.

dent que ce pouvoir émulsionnant est directement lié aux modifications structurales et physico-chimiques que nous avons énumérées depuis le début de ce livre.

Il faut avouer cependant que notre ignorance de la chimie des protéines ne nous permet pas encore d'établir la corrélation complète entre ces phénomènes.

Seelich réussit encore à montrer que le chauffage aux environs de 57° déterminait des modifications qu'on pouvait mettre en évidence par une autre méthode : la tension interfaciale.

CHAPITRE XI

Tension interfaciale en fonction de la température

Le gel formé par agitation du sérum avec de l'éther est une sorte d'émulsion : cette « fixation d'éther » obéit aux relations quantitatives qui gouvernent le volume de la phase non aqueuse émulsionnable en fonction d'un volume donné de la phase aqueuse et de la quantité et qualité de l'émulsionnant.

Or, nous savons maintenant que le pouvoir émulsionnant du sérum est modifié après un chauffage à 56° ; étant donné que l'activité interfaciale est un des facteurs les plus importants de l'activité d'un émulsionnant [1], ce fait pouvait être dû à un changement de l'activité interfaciale du sérum, provoqué par la modification de la « molécule du sérum » au cours du chauffage. La mesure de la tension interfaciale entre le sérum et l'éther, en fonction des températures auxquelles le sérum a été porté, s'imposait donc. Comme l'éther s'évapore trop vite pour permettre des mesures de longue durée, on employa l'huile de vaseline. Ceci modifiait évidemment les conditions du problème, mais dans un sens connu, car l'activité interfaciale des protéines dépend de la tension interfaciale à l'interface d'adsorption. A une interface de tension relativement faible, comme celle de l'éther en contact avec l'eau (environ 18 dynes) l'adsorption est évidemment différente de celle qui se produirait à une interface d'eau et d'huile de vaseline, dont la tension est relativement haute (environ 32 dynes).

Cette observation, pourtant banale et qui n'exprime qu'un

(1) S'il s'agit de la formation et non de la stabilité d'une émulsion.

aspect d'un principe thermodynamique bien connu, est d'une importance capitale qui a été méconnue dans tous les phénomènes biologiques et en particulier dans les réactions d'immunité comme on le verra par la suite. Qu'il nous soit permis, avant de continuer, de la préciser.

On sait que ce second principe fondamental de la thermodynamique, encore appelé principe de Carnot-Clausius, peut s'exprimer ainsi : un système tend toujours vers un état d'équilibre correspondant au minimum d'énergie libre compatible avec son énergie totale. On démontre (Boltzmann) que cet état est le plus probable. C'est ce principe qui a conduit à la formule de Gibbs[1]. Or, l'énergie libre d'un liquide, d'une solution, se mesure par la valeur de sa tension superficielle, et de sa tension interfaciale. Si donc il existe en solution des substances capables de diminuer l'énergie libre du système, ces substances se dirigeront aux interfaces afin de diminuer l'énergie totale du système. Mais c'est ici qu'une sélection intervient, sélection dont on n'a pas tenu compte jusqu'à présent pour expliquer certains phénomènes. En effet, nous venons de voir que l'adsorption des substances en solution ou en suspension est commandée par la valeur de la tension interfaciale : il y aura adsorption seulement là où l'arrivée des molécules ou particules sera capable de diminuer la tension. Donc, si pour une raison quelconque la valeur de la tension interfaciale est diminuée, l'adsorption ne peut plus se produire si la diminution est égale ou supérieure à celle que les molécules en solution sont capables de déterminer en s'adsorbant. Au contraire, si la tension interfaciale est augmentée, des corps qui jusque-là restaient en solution, se porteront aux interfaces pour diminuer la tension.

Prenons un exemple. Soit un système composé de deux solutions peu ou pas miscibles, contenu dans un verre. Supposons que la tension interfaciale ait une valeur de 35 dynes/cm. Si les molécules en solution dans l'un des solvants déterminent normalement un abaissement de tension correspondant à 32 dynes, elles s'adsorberont à toutes les interfaces y compris l'interface liquide-liquide, dont la tension sera ramenée à 32 dynes. Mais, si la valeur de la tension à l'interface était primitivement de 32 ou

(1) Voir Lecomte du Noüy, *Equilibres superficiels des solutions colloïdales*, p. 12.

30 dynes, les mêmes molécules ne s'y adsorberaient pas, tandis qu'elles continueraient à s'adsorber aux interfaces liquide-solide.

On voit donc qu'on peut déterminer ou empêcher l'adsorption de certaines substances à une certaine interface simplement

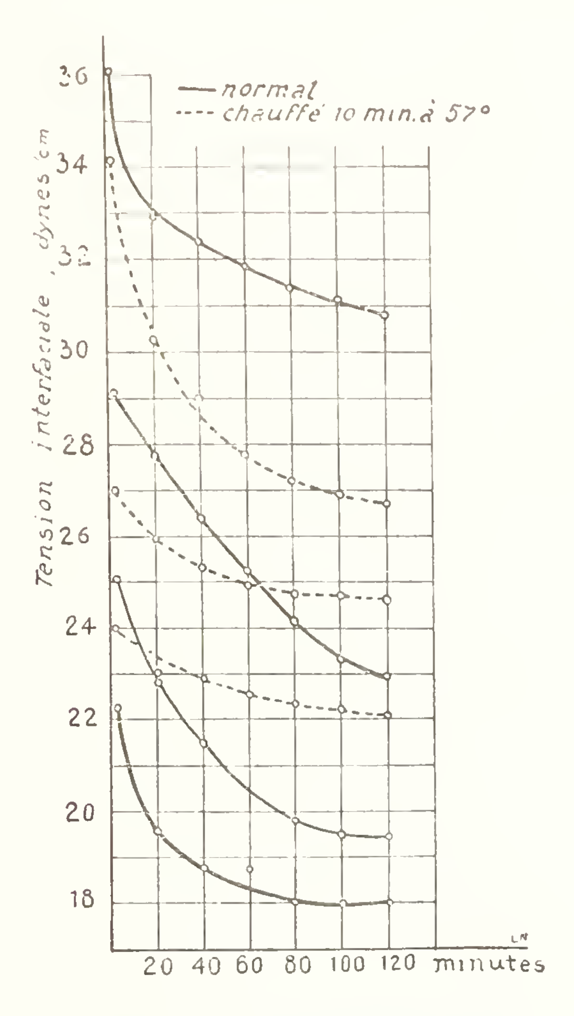


Fig. 81. — Sérum de cheval dilué par la solution de Ringer. Tension interfaciale contre l'huile de vaseline.

en modifiant la valeur de la tension de cette interface. En augmentant la tension interfaciale, on peut forcer certaines substances à s'adsorber, alors qu'au-dessous d'une certaine valeur, ces mêmes substances resteraient en solution. *La distribution des molécules surface actives dans le liquide, l'équilibre : quantité de substance adsorbée-quantité de substance dispersée, est sous la dépendance de la tension interfaciale qui peut ainsi interdire l'adsorption de certaines substances à certains endroits et pas à*

d'autres. C'est à Seelich que revient le mérite d'avoir attiré l'attention sur ces faits.

Les mesures furent effectuées au moyen du tensiomètre interfacial décrit ailleurs ([1]).

Les résultats des mesures de la tension interfaciale en fonction du temps peuvent se résumer de la façon suivante ([2]) :

1° L'abaissement initial de la tension interfaciale (valeur dynamique), est plus importante dans le cas du sérum chauffé à 57°, que dans le cas du sérum normal (voir fig. 81) (ce phénomène de faible amplitude dans tous les cas, est plus marqué aux concentrations relativement faibles, où l'adsorption est retardée);

2° Le sérum normal non dilué ou dilué jusqu'au 1/100e environ, atteint une tension statique plus basse que le sérum chauffé à 57° en deux heures. Le sérum dilué au delà du 1/100e (au 1/1.000e par exemple), présente au bout de 2 heures une tension interfaciale bien plus basse que le sérum pur (fig. 81). Ce phénomène curieux a été expliqué par Seelich de la façon suivante :

Quand on étudie l'activité superficielle $-\frac{d\gamma}{dc}$ en fonction de la concentration d'une substance en solution, on constate que la courbe qui représente les variations de la tension en fonction de la concentration présente l'aspect des courbes de la figure 82. Ces courbes indiquent que la chute est rapide pour de faibles concentrations et tend vers une valeur constante pour des concentrations plus élevées ([3]). La courbe inférieure B correspond évidemment à une substance plus active que la courbe A. Or, le chauffage, en hydratant la molécule sérique irréversiblement doit rendre certains groupes plus hydrophiles, c'est-à-dire qu'après chauffage, ces molécules ont moins de tendance à s'adsorber aux surfaces de séparation ; elles sont donc moins surface-actives. Nous nous trouvons donc, dans le cas du sérum, en présence de deux substances (sérum *chauffé* et sérum *non chauffé*) dont l'activité est différente (par rapport à une tension interfaciale donnée), et dont l'activité peut être représentée par ces deux courbes A

([1]) Lecomte du Noüy, *Méthodes physiques en biologie et en médecine*, Paris, Baillère, 1933, p. 82 et *Equilibres superficiels des solutions colloïdales*, p. 181.

([2]) Seelich, F., *Biochem. Zeitschr.*, **273**, p. 135 (1931).

([3]) Voir Lecomte du Noüy, *Equilibres superficiels des solutions colloïdales*, pp. 61 et suiv.

et B. Mais c'est ici qu'intervient un facteur nouveau : *l'augmentation de concentration apparente par suite de chauffage*, que nous avons établie précédemment (voir chap. I et VI). On se souvient en effet que nous avons montré que l'accroissement de

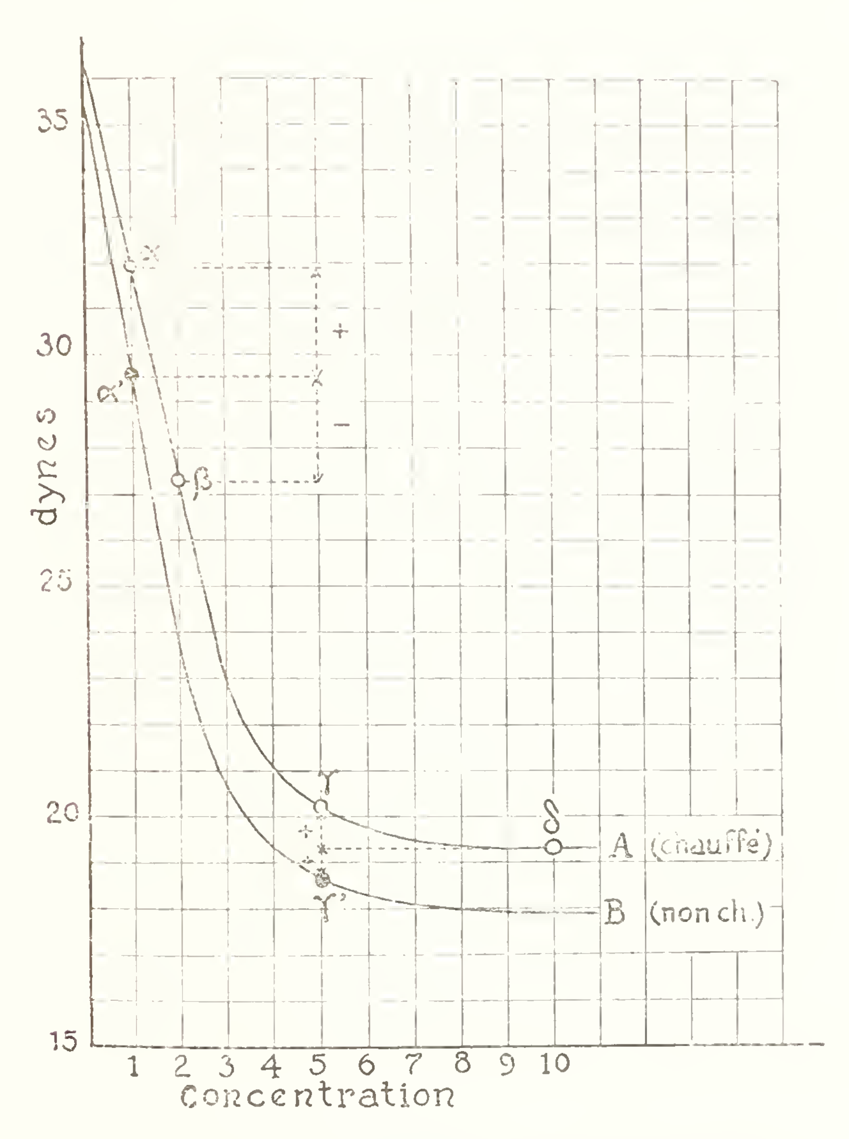


Fig. 82. — Figure schématique montrant comment, suivant que deux solutions sont concentrées ou diluées, l'activité superficielle peut varier dans des proportions différentes pour le même écart de concentrations, jusqu'à changer le signe du rapport des activités.

volume des molécules sériques se produit au détriment de l'eau (solvant). Si la quantité d'eau diminue par rapport à la quantité de substance dissoute, tout se passe comme si la concentration avait augmenté. Or, il est facile de se rendre compte que, *dans une certaine région de la courbe* (vers la gauche), un changement de

concentration du sérum chauffé (du simple au double par exemple, points α, α' et β), entraîne un *renversement* de la valeur d'activité superficielle du sérum chauffé *par rapport à l'activité* du sérum non chauffé α' : à concentration égale, le sérum *chauffé*,

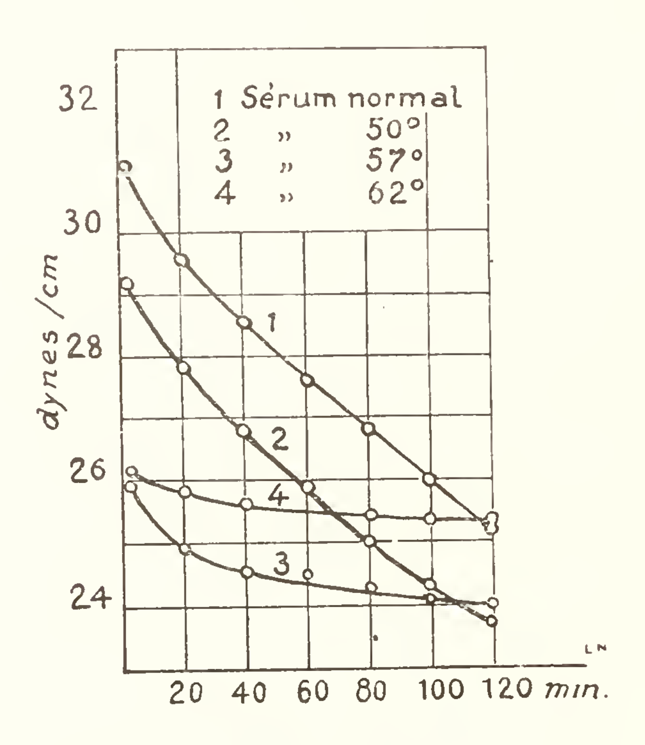


Fig. 83. — Tension interfaciale contre l'huile de vaseline. Sérum de cheval, dilué au 1/100 (par solution de Ringer), chauffé pendant dix minutes.

au lieu de donner le point α, donne le point β, puisque sa concentration est *apparemment* doublée. Son activité superficielle est donc plus grande en fait, bien qu'elle ait diminué au point de vue spécifique. Au contraire, dans une autre région de la courbe (dilution de l'ordre du 1/10ᵉ) vers la droite, une augmentation apparente identique (de 100 %) de la concentration du sérum par chauffage donnera le point δ, au lieu du point γ et ces deux points, δ et γ sont tous deux *au-dessus* de l'ordonnée correspondant à l'activité superficielle du point γ'. Entre les deux extrêmes, on trouverait une concentration telle que le chauffage déterminerait une activité exactement égale à celle du sérum non chauffé. Cette hypothèse permet d'expliquer l'allure des courbes de la

figure 81 ainsi que leur croisement, qui sans cela serait difficile à comprendre [1] ;

3° Dans le cas du sérum chauffé pendant 10 minutes à 62°, la tension statique semble être un peu plus haute que dans le cas du sérum chauffé à 57° (les mesures étant faites dans les mêmes conditions, voir fig. 83). Ce fait pourrait être dû à l'augmentation

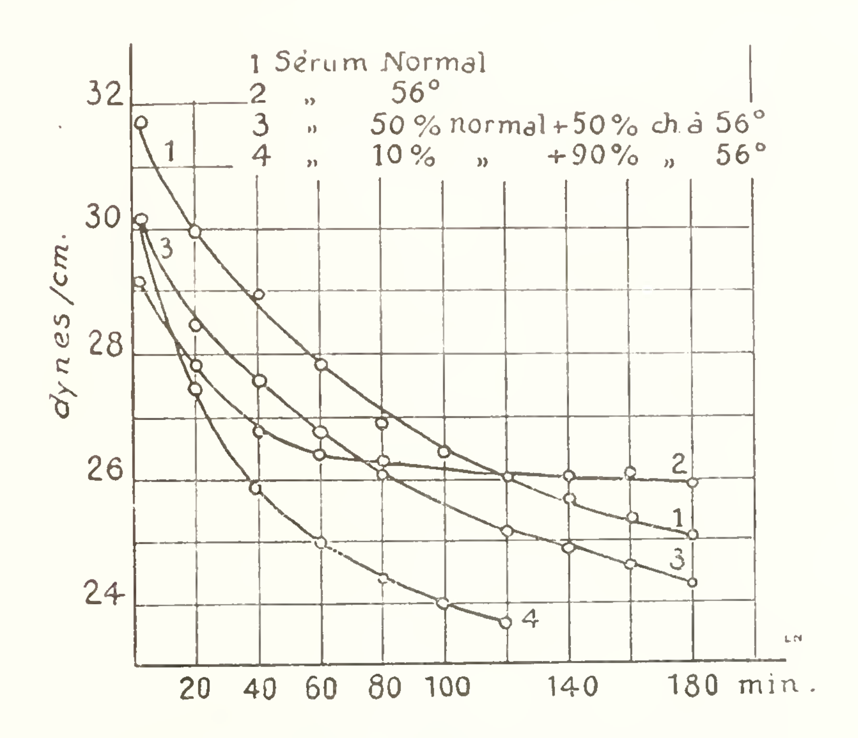


FIG. 84. — Tension interfaciale contre l'huile de vaseline. Sérum de cheval dilué au 1/200 avec solution de Ringer, chauffé dix minutes à 56°.

(1) Le changement de la tension superficielle du sérum chauffé par suite de l'augmentation *apparente* de la concentration en « molécules sériques » peut être comparé à l'effet de l'addition de sels inorganiques ou de sucres à une solution d'une substance surface-active. [TRAUBE, *Ber. d. deutsch. Chem. Ges.*, **20**, 2641 (1887). WORLEY, *Journ. Chem. Soc.*, **105**, p. 263 (1914). BERCZELLER, *Bioch. Zeit.*, **66**, p. 173 (1914).] Les sels, qui augmentent la tension superficielle de l'eau, ou les sucres qui pratiquement n'ont pas d'influence sur la tension de l'eau, font baisser la tension superficielle d'une telle solution. Les sels et les sucres s'hydratent fortement et il en résulte une augmentation *apparente* de la concentration de la substance surface-active par suite de la diminution de la quantité d'eau disponible. L'influence des sels est d'autant plus grande que leurs ions sont plus hydratés et on retrouve de cette façon les séries lyotropiques (SETH, *Zeit. physik. Chemie*, **117**, p. 257 (1925). FREUNDLICH et SCHNELL, *Zeit. physik. Chem.*, **133**, p. 151 (1928)], aussi bien que dans le cas très voisin de la diminution de la solubilité des substances peu solubles par suite de l'addition de sels. Les molécules sériques qui, par suite du chauffage, ont augmenté leur hydratation et leur volume, se trouvent de ce fait dans un état de concentration plus forte par rapport à l'eau disponible.

de la viscosité du sérum à 62°, qui ralentirait l'adsorption ;

4° L'addition au sérum chauffé à 56° d'une petite quantité de sérum normal modifie la courbe de la tension interfaciale en fonction du temps, *dans le sens de la courbe du sérum normal* : la

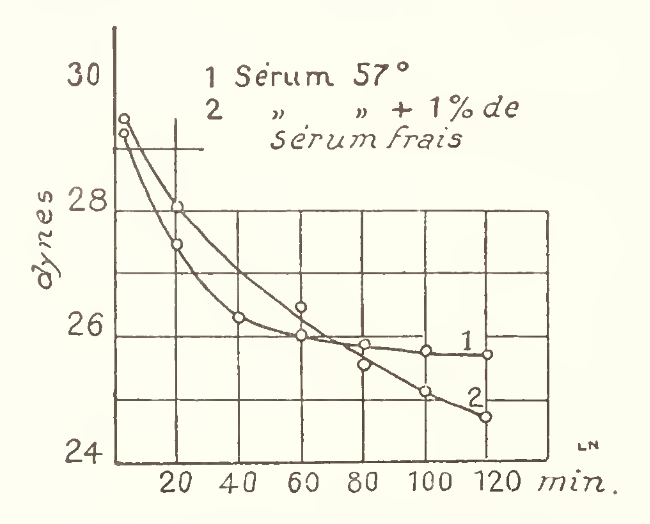


FIG. 85. — Tension interfaciale contre l'huile de vaseline. Sérum de cobaye dilué au 1/200 par solution de Ringer, chauffé dix minutes à 57°. La courbe n° 2 représente l'allure du phénomène après addition de 1 pour cent de sérum frais.

courbe du sérum chauffé à 56° pendant 10 minutes et ainsi traité correspond à une tension statique considérablement plus basse que celle du sérum chauffé à 56° et non additionné de sérum frais (voir fig. 84). L'addition de 1 % de sérum normal suffit à modifier la courbe du sérum à 56° dans le sens indiqué (voir fig. 85) ;

5° On observa en outre que le sérum chauffé pendant 10 minutes à 57° et laissé en repos à la température de la chambre pendant 24 heures, ou chauffé à l'étuve pendant 2 heures et demie à 37° se trouve modifié de telle manière que la courbe de l'abaissement de la tension interfaciale en fonction du temps correspond dès lors à une tension statique plus basse et se rapproche par conséquent de la courbe du sérum non chauffé (voir fig. 86). Nous avons trouvé une publication de Gramenitzky [1] qui, au point de vue du complément, signale le même phénomène : il observa, dans les mêmes conditions, une régénération partielle de la fonction alexique.

(1) GRAMENITZKY, M., *Bioch. Zeitschr.*, **38**, p. 501 (1912).

Il est probable que la différence entre le sérum chauffé et le sérum non chauffé serait plus nette, si l'on mesurait l'activité interfaciale à une interface de tension plus faible. Le fait que le sérum normal peut abaisser la tension interfaciale au delà de la

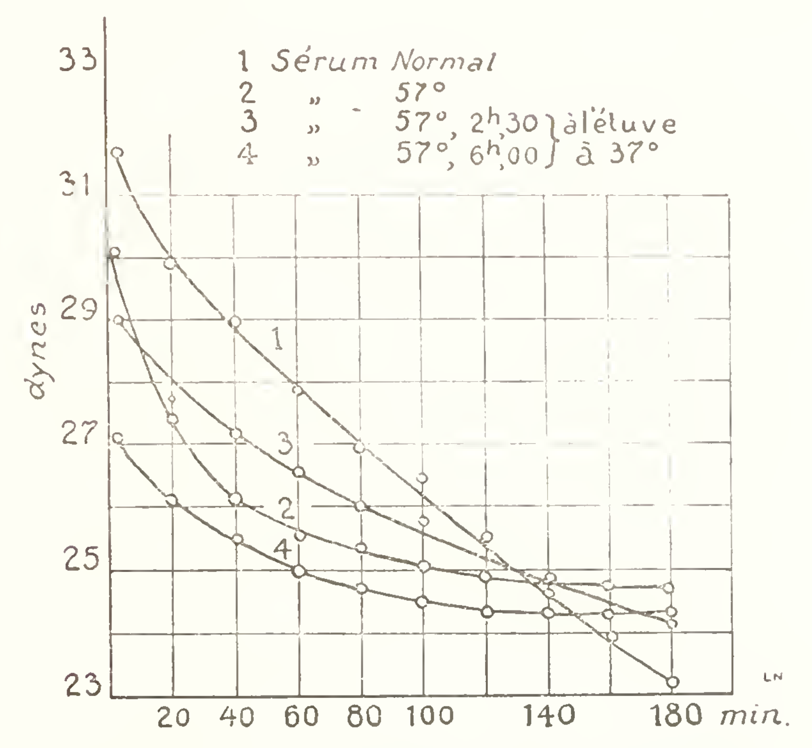


Fig. 86. — Tension interfaciale contre l'huile de vaseline. Sérum de cobaye dilué au 1/200 par solution de Ringer, chauffé dix minutes à 57°. La courbe n° 3 correspond au sérum maintenu pendant deux heures et demie à l'étuve à 37°. La courbe n° 4 correspond au même sérum maintenu pendant six heures à l'étuve à 37°.

tension statique du sérum chauffé, peut être dû à la présence, dans le sérum normal, de complexes lipo-protéiques, ayant une activité interfaciale plus grande. On pourrait peut-être trouver une interface d'une valeur telle que seuls ces complexes pourraient l'abaisser, tandis que les molécules de sérum fortement hydratées par un chauffage à 57° ne s'adsorberaient plus.

On peut se faire une idée de la tension interfaciale à la surface de séparation entre les globules rouges et la solution physiologique ; cette tension doit être très faible. D'après ce qui a été dit plus haut au sujet de l'action de la valeur de la tension interfaciale, la présence dans le sérum normal de complexes de ce genre

(lipo-protéines) suffirait à expliquer la fonction hémolytique du sérum normal.

*
* *

Ces études n'en sont qu'à leur début. Il est hors de doute que, systématiquement employées, ces méthodes doivent donner des résultats intéressants. Elles permettent, comme on a pu s'en rendre compte, de découvrir des rapports nouveaux, des phénomènes inconnus qui limitent de plus en plus le terrain dans lequel on doit chercher l'explication complète des mécanismes physico-chimiques qui sont à la base des réactions d'immunité. Faute de les avoir employées, on a vécu pendant de longues années avec des entités verbales dont le plus grand tort n'était pas tant d'être hypothétiques que de satisfaire faussement l'esprit par une simplicité apparente, d'endormir la curiosité et de paralyser la recherche.

CHAPITRE VII

Le spectre d'absorption du sérum dans l'ultra-violet en fonction de la température

Un substance pure est en général bien définie par son spectre d'absorption. Les belles recherches de Victor Henri et de ses collaborateurs [1] ont montré les conclusions importantes que l'on peut tirer des courbes tracées en fonction de la longueur d'onde, lorsque la constitution chimique du corps est connue. Lorsque la constitution est mal connue ou ne l'est pas du tout, les conclusions sont bien loin d'être aussi satisfaisantes et il faut se contenter d'accumuler des observations qui pourront peut-être être utilisées plus tard. C'est ce qui se passe pour le sérum sanguin. La courbe d'absorption en a déjà été établie par divers auteurs [2], mais là se borne le résultat de leurs expériences. En général, ils se sont même efforcés, dans le but de simplifier le problème, de dessiner les courbes d'absorption de l'albumine et des globulines séparément. Ceci n'a pas fait avancer la question, car on n'en sait guère davantage sur ces éléments séparés que sur la « molécule de sérum » entière, qu'on appelle parfois aujourd'hui : « complexe protido-lipidique », et dont les biochimistes commencent à admettre l'existence.

Nous avons pensé néanmoins qu'il pourrait y avoir intérêt à effectuer une série de mesures sur le sérum normal frais et sur le

(1) Victor HENRI, *Etudes de photochimie*, Paris, 1919 (Gauthier-Villars).

(2) Judd LEWIS (S.), *Proc. Roy. Soc.*, **93**, p. 178, 1922 ; STENSTROM et REINHARD, *J. Biol. Chem.*, **66**, p. 819, 1925 ; SMITH (F.-C.), *Proc. Roy. Soc.*, **104** p. 198, 1929

sérum chauffé à des températures comprises entre 50° et 66° pendant 10 minutes, afin de nous rendre compte si les importantes modifications que nous avons déjà signalées, et qui débutent vers 55°, n'entraînaient pas également des variations dans la courbe d'absorption.

Les courbes obtenues dans le visible et le proche infra-rouge (jusqu'à 0,9 μ) n'ayant pas fourni jusqu'ici de caractéristiques remarquables, tandis que celles correspondant à l'ultra-violet présentant au contraire un minimum et un maximum bien définis caractérisant les protéines et certains amino-acides, nous étudierons la région des courtes longueurs d'ondes, qui semble être de beaucoup la plus importante du point de vue qui nous intéresse.

*
* *

On sait que la courbe d'absorption caractéristique de substances en solution est celle qui exprime, en fonction de la longueur d'onde, l'absorption relative, par ces substances, de la lumière, visible ou non, par rapport à l'absorption du solvant pour la même longueur d'onde. En d'autres termes, chaque point de la courbe représente le *rapport* entre l'absorption de la solution et l'absorption du solvant pur (l'eau, dans notre cas) pour une radiation monochromatique.

Pour obtenir cette courbe, on disperse la lumière au moyen d'un prisme ou d'un réseau après son passage à travers la solution ou à travers le solvant. On compare ensuite l'intensité des noircissements de la plaque photographique sur laquelle les deux spectres ont été photographiés côte à côte. Il existe plusieurs méthodes pour estimer pratiquement la densité optique de la solution par rapport à celle du solvant. Celle qui nous a donné les meilleurs résultats avec le plus de facilité consiste à interposer sur le trajet de la lumière, successivement, le solvant (eau) et la solution (sérum) sous des épaisseurs variées, mais toujours identiques entre elles, les temps de pose, seuls, étant différents. C'est-à-dire que, par exemple, pour obtenir le spectre du *solvant*, le temps de pose, quelle que soit l'épaisseur du liquide, sera de cinq secondes, tandis que pour obtenir le spectre de la *solution étudiée* le temps de pose variera entre six et trente secondes. Cette méthode fut préconisée par Victor Henri et Wurmser en 1919. En

raison des phénomènes qui se passent dans l'émulsion photographique, il est préférable de ne pas dépasser le rapport 6 ou 7 pour les temps de pose. Lorsque ce temps, par suite de la forte absorption du solvant pour certaines radiations, est insuffisant, il est préférable de diminuer l'épaisseur des liquides dans le même rapport, afin que le rapport des temps de pose reste inférieur à 7.

En admettant que, dans les limites de durées utilisées, la loi de Schwarzschild :

$$\frac{I_0}{I} = \left(\frac{T}{t}\right)^n$$

(n étant un exposant dont la valeur varie suivant les émulsions entre 0,9 et 1,0) soit vérifiée, on peut écrire :

$$\delta = n \log \frac{T}{t}$$

δ désignant la densité optique de l'absorbant pour la radiation considérée.

On peut d'ailleurs, sans changer la forme de la courbe qui représente la variation de δ en fonction de la longueur d'onde λ, ni la position des bandes d'absorption, supposer $n = 1$ [1] : on aboutit alors en prenant t constamment égal à 5 secondes, à la formule simple :

$$\delta = \log \frac{T}{5}$$

qui a servi à l'établissement des courbes qu'on trouvera dans ce chapitre.

Donc, dans le cas général et pour des *flux lumineux* F_0 et F :

$$\frac{F_0}{F} = \left(\frac{T}{t}\right)^n$$

[1] En effet, l'émulsion photographique de nos plaques reçoit d'une part un éclairement monochromatique, E_0, qui agit sur elle pendant le temps t — et d'autre part, un éclairement de même nature E qui agit sur elle pendant le temps T.

On suppose que les deux impressions produisent le même noircissement. La loi de Schwarzschild s'exprime par la relation :

$$E_0 t^n = ET^n \quad \text{ou} \quad \frac{E_0}{E} = \left(\frac{T}{t}\right)^n$$

l'exposant n variant, suivant les émulsions, de 0,9 à 1 dans la plupart des cas.

Si $n = 1$, on dit que la loi de réciprocité est valable ; on a alors :

$$\frac{E_0}{E} = \frac{T}{t}.$$

Dans ce cas, mais alors seulement, les éclairements sont inversement proportionnels aux temps de pose nécessaires pour entraîner le même noircissement.

Dans notre technique spectrophotométrique, les éclairements monochromatiques E_0 et E sont proportionnels aux flux F_0 et F de même longueur d'onde qui traversent d'une part le solvant, d'autre part l'absorbant.

ou, en prenant les log et en supposant t constant et égal à 5 secondes, la densité optique

$$\delta = \log \frac{F_0}{F} = n \log \frac{T}{5} .$$

La connaissance de l'exposant n est donc *nécessaire* si l'on veut déterminer les valeurs *absolues* des densités optiques. Mais si — comme c'est notre cas — on se propose seulement de déterminer la forme de la courbe d'absorption, c'est-à-dire la variation de δ en fonction de la longueur d'onde λ, il n'est plus indispensable d'avoir la valeur de n ; (on la suppose seulement indépendante de λ).

En effet, changer n revient à multiplier toutes les ordonnées δ de la courbe d'absorption par un même facteur ou encore à changer l'échelle des ordonnées ce qui ne modifie évidemment pas l'allure de la courbe ni les abscisses de ses maxima et minima [1].

Etant donné qu'on s'impose de ne jamais dépasser 6 comme rapport de temps de pose (soit de limiter à trente secondes le temps de pose du sérum), $\log \frac{T}{5}$ ou δ, sera toujours inférieur à 0,77. Pour mesurer des densités supérieures, il suffira, puisque les densités sont proportionnelles aux épaisseurs, de diminuer l'épaisseur du liquide de moitié, par exemple : la valeur de δ, *rapportée à l'épaisseur initiale*, sera alors doublée. Nous verrons un peu plus loin comment on combine ces grandeurs pour étudier une courbe complète, et nous renvoyons, pour tous les détails des calculs et des expériences à notre livre « Méthodes physiques » déjà cité, pages 158 et suivantes.



Le spectrophotomètre à optique de quartz que nous avons employé est construit par MM. Jobin et Yvon et se prête à l'emploi de plusieurs méthodes, grâce à son duplicateur à polarisation que nous n'avons pas utilisé pour l'obtention des spectres publiés dans ce chapitre. Les cuves, sortant de la même maison, étaient d'un modèle extrêmement pratique permettant de varier l'épaisseur du liquide traversé par la lumière, de 0 à 10 millimètres, par centième de millimètre, la lecture de l'épaisseur se faisant sur un tambour. Nous avons employé des plaques photographiques ordinaires (étiquette bleue Lumière, radio-brom Jougla ou radio-éclair

[1] J'exprime mes remerciements très vifs à M. Tardy, ancien élève de l'Ecole Polytechnique qui a bien voulu rédiger les paragraphes imprimés en petits caractères, et qui nous a conseillés pour tout ce qui concernait les méthodes optiques.

Guilleminot) du format 9 × 24 centimètres sur lesquelles on pouvait impressionner 22 spectres.

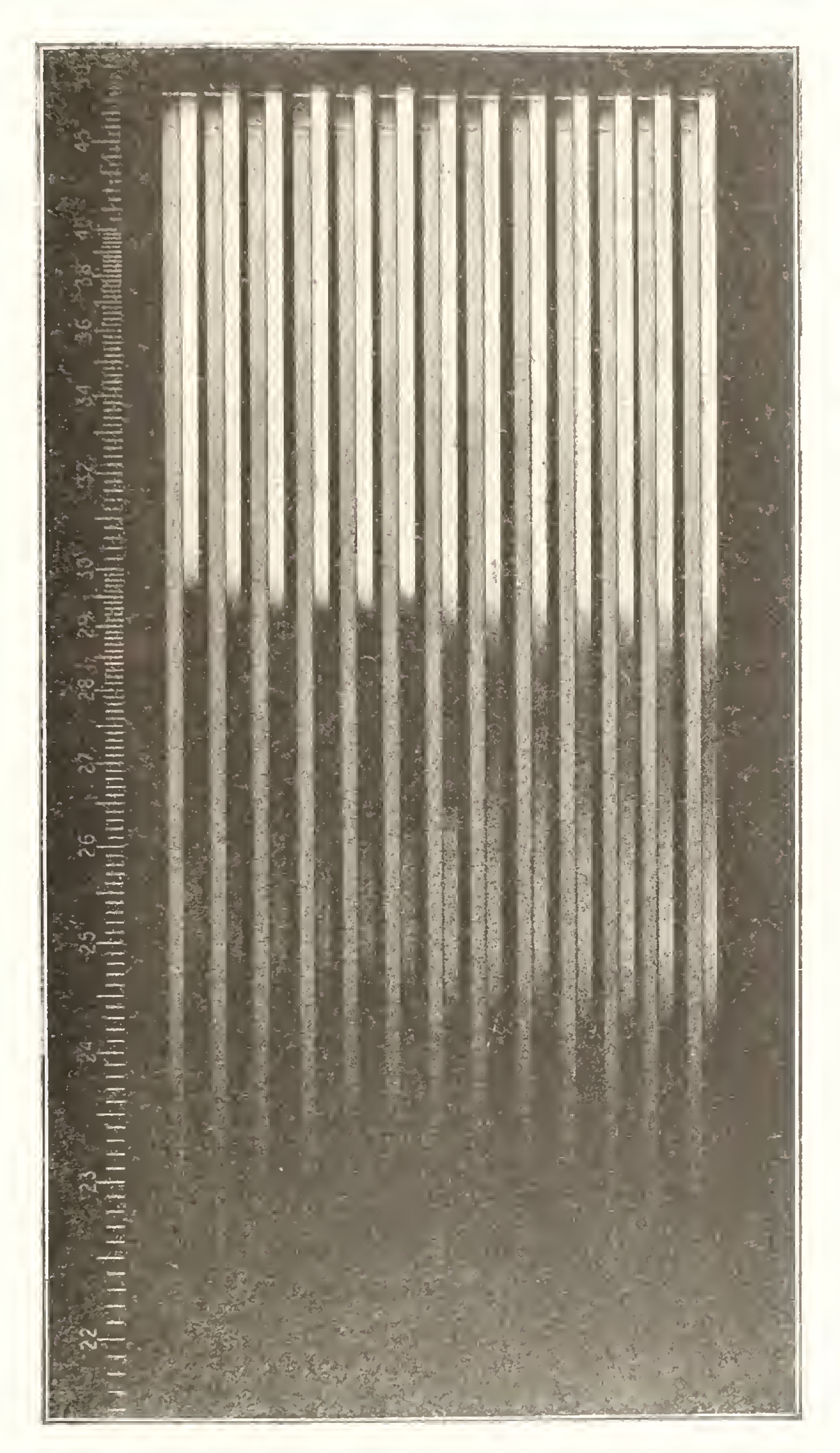


Fig. 87. — Épreuve positive d'un cliché obtenu par la méthode décrite (lampe à hydrogène, fond continu). Les longueurs d'onde se lisent sur l'échelle en λ × 100. Expérience n° 229, plaque n° 79.

La détermination de l'égalité de noircissement, qui est toujours le point faible de ces méthodes quand on s'en rapporte uniquement à l'œil, sans dispositif optique, fut faite avec autant de précision que possible au moyen de l'*équidensimètre* de Jobin et Yvon. Cet appareil explore les deux spectres contigus par deux minces faisceaux lumineux réglables en dimensions et en intensité. Après leur passage à travers la plaque photographique, ces faisceaux sont recueillis par un système optique qui les transforme en deux grandes plages lumineuses contiguës dont il est facile d'apprécier l'identité d'éclairement. Une autre lunette permet, lorsque cette identité est observée, de lire directement la longueur d'onde imprimée photographiquement sur la plaque. Cette dernière, portée sur un chariot est mue longitudinalement au moyen d'une vis micrométrique, et les deux lunettes étant elles-mêmes portées sur un chariot animé d'un mouvement perpendiculaire à celui de la plaque, l'exploration de toute la plaque s'effectue avec le maximum de facilité et de précision. Dans ces conditions, la position des égalités peut être repérée en longueur d'onde, à $\pm$ 0,001 μ, soit 10 Ångströms près, dans de bonnes conditions. La figure 87 donne, en positif, l'aspect des spectres sur une plaque. (Sérum de cheval.)

Technique

Comme source lumineuse, nous avons employé après de nombreux essais, la lampe à hydrogène de Chalonge, construite par la maison S.C.A.D. et alimentée à 2.000 volts environ par un transformateur. Cette lampe fournit, on le sait, un spectre absolument continu dans l'ultra-violet, jusque vers 2.200 Å. Les courbes publiées ici sont toutes obtenues au moyen de cette source. L'expérience ayant prouvé que l'on pouvait investiguer la région intéressante en n'employant pas des épaisseurs de liquide supérieures à 0 mm. 40 et le plus généralement comprises entre 0 mm. 20 et 0 mm. 05, on mettait d'abord en place la cuve contenant de l'eau, sous une épaisseur de 0 mm. 20 par exemple. Comme nous l'avons dit plus haut, le temps de pose était pour l'eau toujours de cinq secondes, à moins de cas spécial. Un volet

mobile permettait d'obtenir les deux spectres, celui de l'eau et celui du sérum rigoureusement juxtaposés. On plaçait ensuite la cuve contenant le sérum sous la même épaisseur, et l'on exposait pendant six ou sept secondes.

Nous trouvâmes rapidement que la plus importante source d'imprécision était le temps d'exposition. Après avoir effectué l'obturation à la main, en mesurant le temps au moyen d'un chronomètre à stop au 1/50e de seconde, nous nous assurâmes que les erreurs atteignaient fréquemment 1/10e de seconde, ce qui était inadmissible. En effet, les points obtenus se distribuaient de part et d'autre de la courbe d'absorption et il était impossible d'obtenir une précision plus grande. De plus, les expériences étaient extrêmement fatigantes en raison de l'attention soutenue qu'elles exigeaient.

Il fallut donc construire un appareil donnant automatiquement des temps de pose de 1 à 30 secondes, exacts à 1/50e de seconde près. Afin d'éviter l'influence de la température du corps de l'opérateur, des mouvements du sol, de la poussière, etc., nous eûmes recours — ayant naturellement éliminé le métronome comme beaucoup trop grossier — à un pendule électriquement entretenu, et dont les oscillations étaient commandées par une pendule électrique à pile placée à distance, sur un mur solide. Les appareils fonctionnant sur le courant alternatif de la ville furent écartés en raison des tolérances trop grandes du cahier des charges, qui autorise des fluctuations de fréquence de l'ordre de 1 à 2 %. La pendule choisie (Magnéta) nous donna toute satisfaction, les différences au cours d'une expérience d'une heure étant de l'ordre de 1/100e de seconde en moyenne, quand la température restait constante à 1° près dans la pièce (± 0°,5).

Le pendule synchronisé était muni d'un dispositif permettant de varier, comme nous l'avons dit, le temps de pose de 1 à 30 secondes simplement en déplaçant un index sur un cadran. Il commandait électriquement par l'intermédiaire d'un relai un obturateur électro-magnétique placé devant la fente. La première série d'expériences faites au moyen de ce nouveau montage montra que tous les points expérimentaux venaient se placer sur la courbe. Grâce à ce dispositif, Mme Lecomte du Noüy put photographier 18.000 spectres dans l'ultra-violet.

Calcul des densités et établissement des courbes d'absorption.

Cette méthode permet de déterminer à l'avance le temps de pose nécessaire pour obtenir des points d'ordonnée choisie.

En effet, supposons qu'on ait obtenu expérimentalement et par tâtonnement, pour commencer, trois points d'égal noircissement aux longueurs d'onde : $\lambda = 2.900$, 2.530 et 2.470 A. Le fait qu'il existe trois égalités dans ces deux spectres contigus indique que la courbe doit passer par un maximum et un minimum. Si ce résultat a été obtenu avec une épaisseur de 0 mm. 2 et des poses de cinq secondes pour l'eau et vingt-six secondes pour le sérum, nous avons vu que la densité δ que nous devons porter en ordonnées sera égale à $\log \frac{T}{t}$ (où t indique le temps de pose constant de l'eau (cinq secondes) et T le temps de pose du sérum) soit $\log \frac{26}{5} = 0{,}716$. L'ordonnée des trois points de notre courbe est donc 0,716. Nous portons ces points sur un papier millimétrique où les longueurs d'onde sont figurées en abscisses, par exemple entre 2.200 et 4.000 Angströms. Il existe donc des points de la courbe au-dessus et au-dessous de 0,716. Si nos ordonnées vont de 0 à 2,000, ce qui est en général suffisant ($\delta = 2{,}0$ indiquant une absorption cent fois plus grande que celle du liquide de comparaison) il nous faudra d'abord trouver des points situés, par exemple, aux environs de $\delta = 0{,}1$; $0{,}5$; $1{,}0$; $1{,}5$; $2{,}00$. Limités comme nous le sommes par le rapport $\frac{T}{5}$ qui ne peut dépasser 6, pour les raisons exposées plus haut, nous allons être obligés de faire varier l'épaisseur du liquide. (En effet, nos points à $\delta = 0{,}716$ correspondent à $\log \frac{26}{5}$ et nous ne pouvons guère augmenter T). Pour gagner du temps, nous avons construit un tableau à double entrée, portant en ordonnées les temps de pose, de cinq secondes à quarante-deux secondes, et, en quatre colonnes verticales, correspondant chacune à une épaisseur donnée (par exemple : 0,4, 0,2, 0,1 et 0,05 mm.), les valeurs de $\log \frac{T'}{5}$. Ces valeurs varient entre 0,0395 (colonne 0 mm. 4, T = six secondes) et 2,020 (colonne 0 mm. 05, T = seize secondes). Ce tableau est

aisé à construire si l'on choisit des épaisseurs dont le rapport est 1/2 comme nous l'avons fait.

Tableau XXXIII. — *Pour servir à l'établissement de la courbe d'absorption d'un sérum dans l'ultra-violet (méthode d'exposition variable).*

Temps d'exposition du sérum en secondes	$\delta = \log \frac{T}{5} \cdot \frac{0,2}{e}$ (valeurs rapportées à l'épaisseur e = 0,2 mm)			
	Épaisseur 0 mm 4	Épaisseur 0 mm 2	Épaisseur 0 mm 1	Épaisseur 0 mm 05
5				
6	0,0395	0,079		
7	0,058	0,114		
8	0,102	0,204		
9	0,127	0,225		
10	0,150	0,301		
11	0.171	0,312		
12	0,190	0,380	0,760	
13	0,207	0,414	0,828	1,656
14	0,223	0,447	0,891	1,788
15	0,232	0,477	0,954	1,908
16	0,252	0,505	1,010	2,020
17	0,265	0,531	1,062	
18	0,278	0,556	1,102	
19	0,289	0,579	1,158	
20	0,301	0,602	1,204	
21		0,623	1,246	
22		0,643	1,286	
23		0,662	1,324	
24		0,681	1,362	
25		0,698	1,396	
26		0,716	1,432	
27		0,723	1,446	
28		0,748	1,496	
29		0,763	1,526	
30		0,778	1,556	
35		0,845		
40		0,903		
41		0,916		
42		0,925		

On voit qu'une épaisseur double correspond à une densité

deux fois moins grande, avec le même temps de pose. Par exemple, si pour une épaisseur de 0 mm. 2 et un temps de pose de dix-

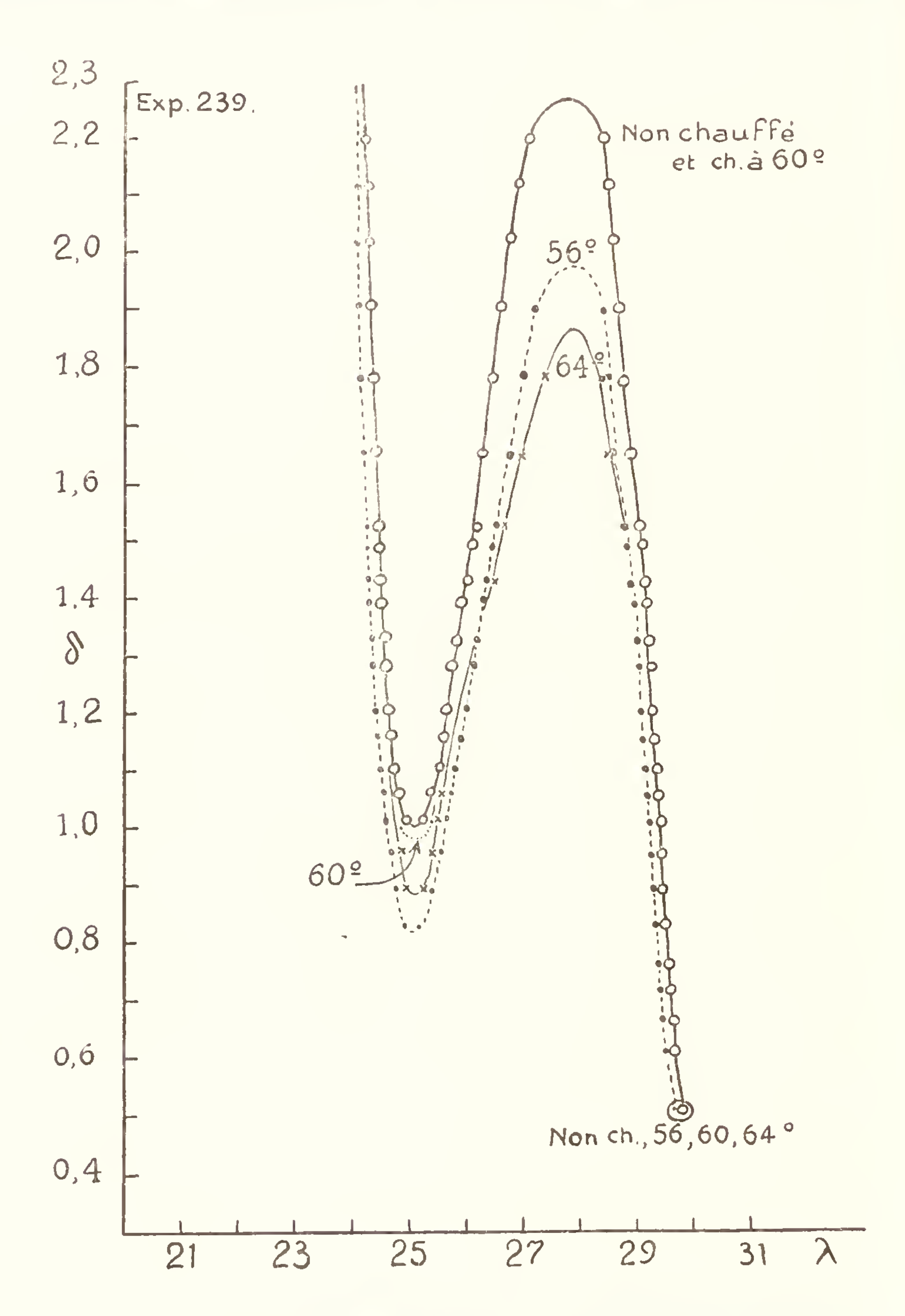


Fig. 88. — Courbe d'absorption dans l'ultra-violet, d'un sérum de cheval (immunisé, diphtérie), non chauffé et chauffé à différentes températures pendant dix minutes. On remarquera qu'ici, les courbes de 56° et 64° sont au-dessous de celles de 60° et du sérum non chauffé. Chaque point (cercle blanc ou point noir) correspond à une lecture à l'équidensimètre. Chaque courbe représente 25 spectres du sérum et 25 spectres du solvant (eau). La même observation s'applique aux figures suivantes.

huit secondes $\delta = 0,556 \left(\log \frac{18}{5}\right)$ en réduisant l'épaisseur à 0,1, $\delta = 2 \times 0,556 = 1,102$.

Dans ces conditions, on peut toujours aisément obtenir, s'il y en a, des points d'ordonnée quelconque, et décider à l'avance les temps de pose principaux, quitte à faire des spectres supplémentaires si l'on a besoin de préciser certains points particuliers.

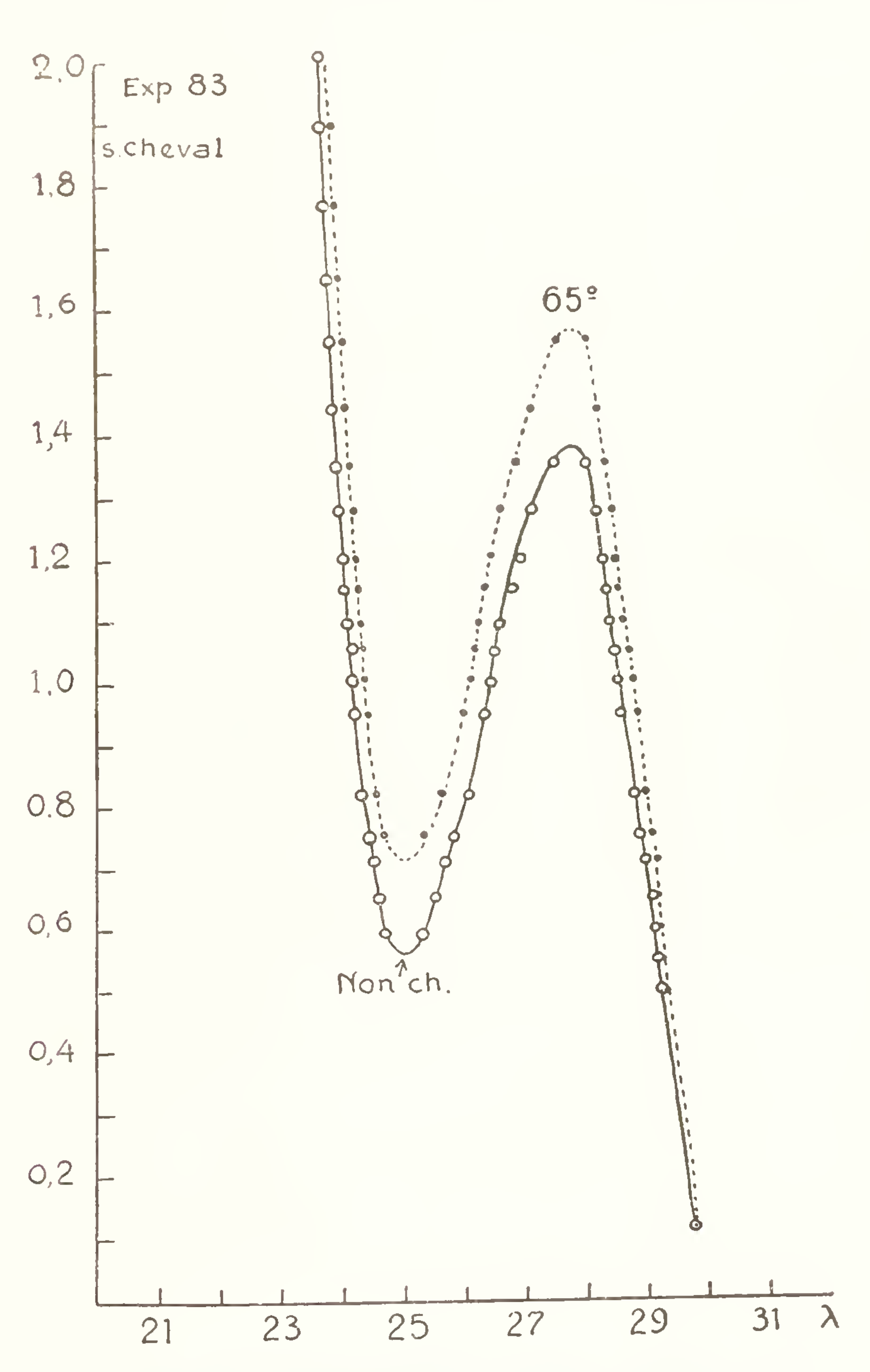


Fig. 89. — Courbe d'absorption du sérum (cheval) non chauffé et chauffé à 65° (dix minutes).

Résultats

Nous publierons uniquement quelques courbes d'absorption. Les résultats peuvent se résumer de la façon suivante, qui se trouve illustrée par les figures, de 88 à 92.

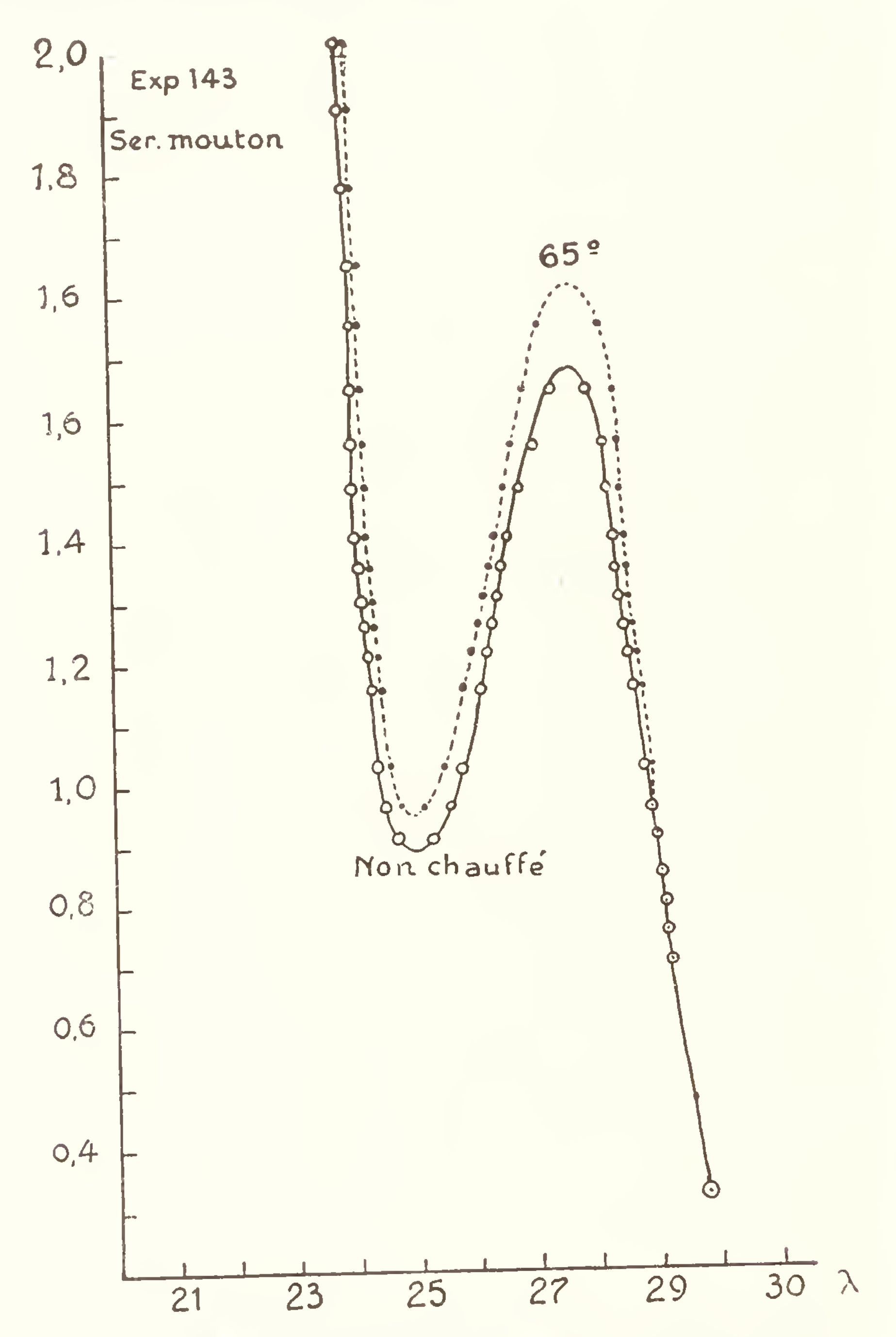


Fig. 90. — Même courbe que la précédente (fig. 89), mais obtenue avec un sérum de mouton. Le sérum humain donne des résultats absolument analogues, mais en général, l'amplitude de la courbe est diminuée.

1° Le sérum de mammifère normal présente dans l'ultraviolet une courbe caractéristique présentant un minimum et un maximum dont les places sont remarquablement constantes à ± 5 Angströms près. La densité commence d'augmenter très rapi-

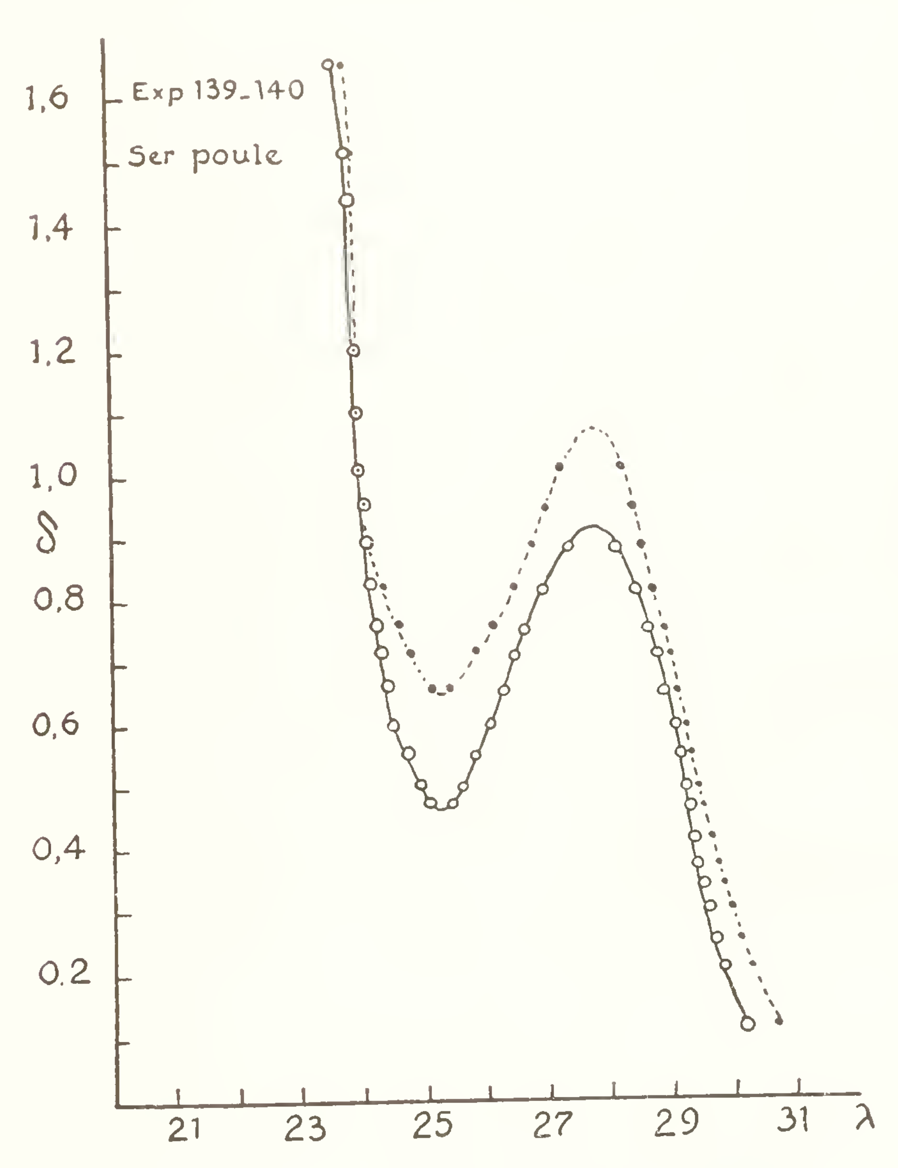


Fig. 91. — Même courbe, mais obtenue avec du sérum de poule (classe des oiseaux). La différence d'amplitude est toujours observée entre la classe des mammifères et celle des oiseaux. La courbe pointillée correspond au sérum chauffé à 65°.

dement à partir de 3.000 Angströms, environ ; le maximum est à 2.764 A ± 5 A. La courbe redescend vers son minimum à 2.495 A ± A, et remonte presque à pic. A partir de 2.400, la densité devient considérable et augmente jusqu'au delà de 2.300 A ;

2° Pour des chauffages de 10 minutes (¹), nous avons étudié successivement :

— La longueur d'onde du minimum, qui ne varie pas d'une

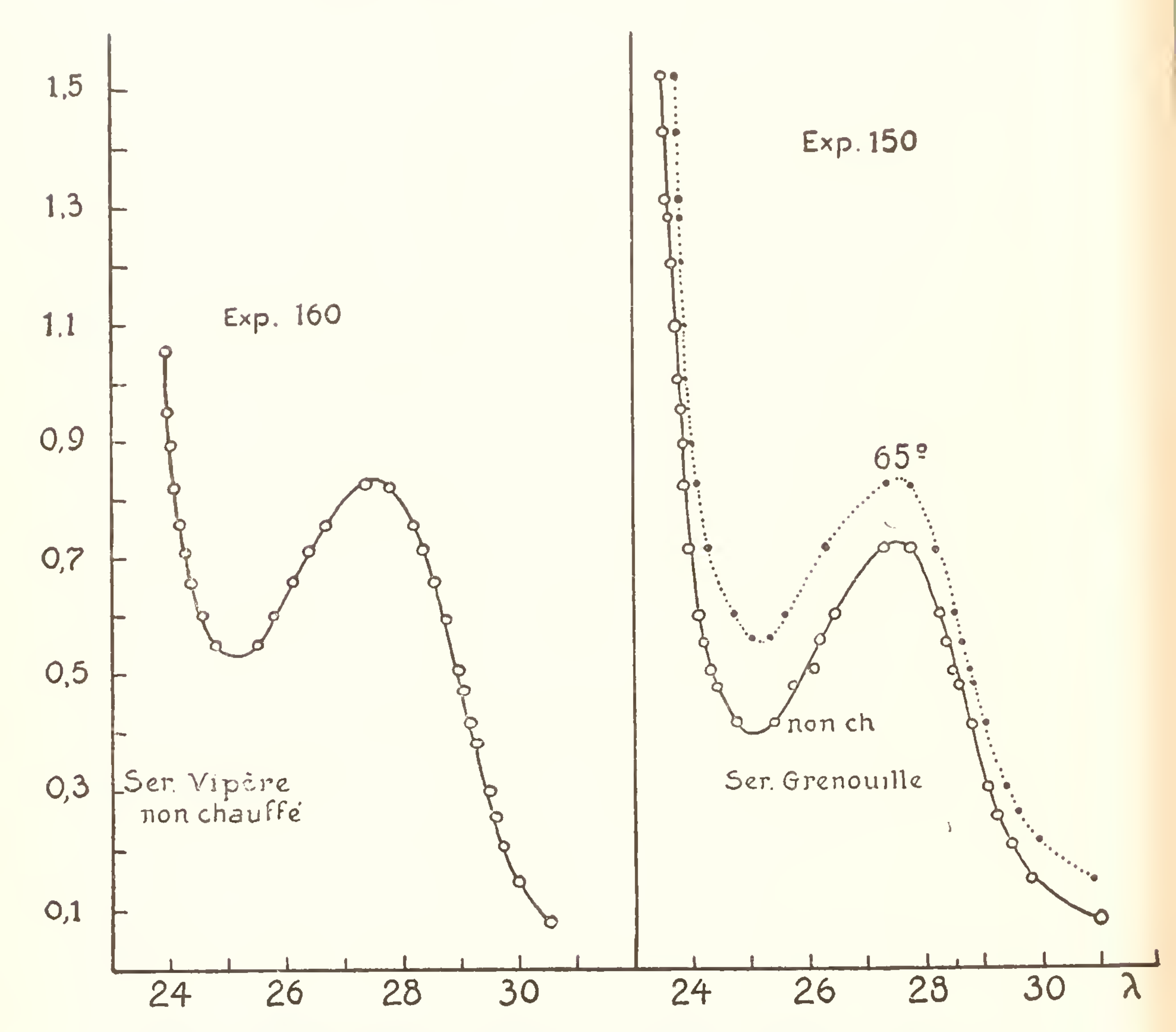


Fig. 92. — Mêmes courbes : sérums de vipère et de grenouille (classes des reptiles et des batraciens). De même que pour le sérum des oiseaux, ces courbes sont beaucoup plus aplaties que celles correspondant au sérum des mammifères.

(¹) Nous nous sommes bornés à ce temps de chauffage parce que dans tous nos travaux antérieurs (voir chapitres précédents) nous avons constaté qu'il était suffisant pour mettre nettement en évidence les phénomènes quantitatifs que nous nous proposions d'étudier. L'intérêt des recherches sur l'absorption dans l'ultra-violet dépendait donc de la corrélation possible entre les phénomènes observés, identiquement dans les mêmes conditions, et les phénomènes précédemment établis. Il ne s'agissait pas tant de trouver des courbes différentes par suite du chauffage que de trouver quelles étaient les modifications entraînées dans la courbe d'absorption par des traitements ayant amené des modifications définies dans les dix phénomènes étudiés jusqu'à ce moment.

quantité supérieure aux erreurs expérimentales (± 5 A) tant que la température n'atteint pas 65°, et se déplace alors vers le visible.

— La longueur d'onde du maximum, qui oscille autour de sa position moyenne à toutes les températures sans se déplacer de façon systématique.

— La densité optique du minimum, qui diminue en général à 56° et à 64°, est instable à 60°, et augmente à 65°.

— La densité optique du maximum, qui diminue en général à 56° et 64°, et augmente à 65°.

— L'amplitude, c'est-à-dire l'écart entre la densité du minimum et la densité du maximum, diminue en général à toutes les températures, mais augmente parfois à 60°.

Les caractéristiques les plus nettes du chauffage de dix minutes sont donc :

A 56°. — La stabilité de la longueur d'onde du minimum et du maximum. La diminution de la densité du minimum (70 % des cas) la tendance à diminuer de la densité du maximum (67 % des cas).

A 60°. — La stabilité de la longueur d'onde du minimum et du maximum.

A 64°. — La stabilité de la longueur d'onde du minimum. Le maximum oscille. La diminution de la densité du minimum et du maximum (71 % des cas). La diminution de l'amplitude dans 86 % des cas.

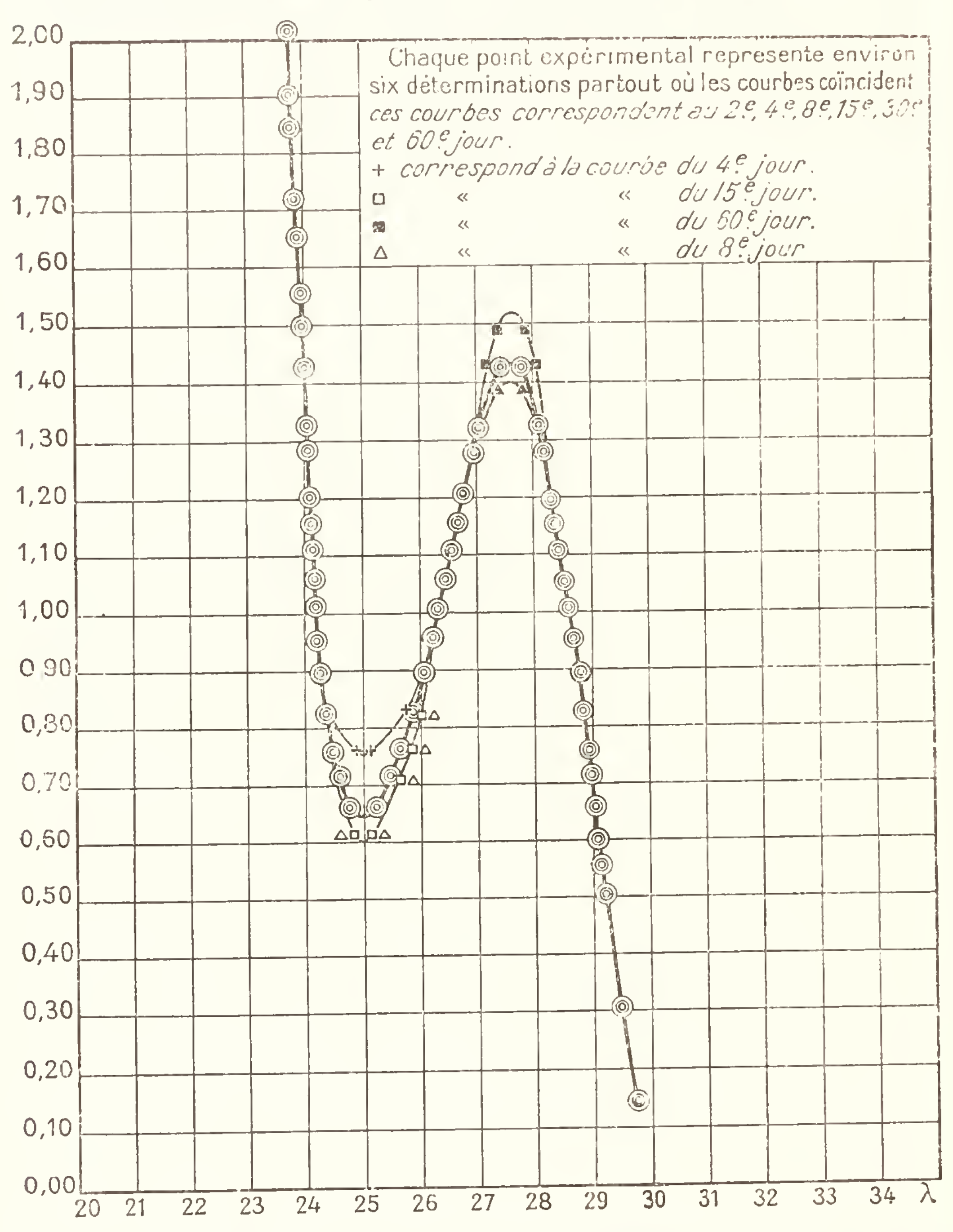
A 65°. — Le déplacement de la longueur d'onde du minimum vers le visible dans 79 % des cas (valeur moyenne : 11,5 Angströms). La stabilité moyenne du maximum (oscillations). L'augmentation de la densité du minimum (93 % des cas) et du maximum (79 % des cas).

A 66°. — Mêmes caractères qu'à 65°, mais plus marqués.

Ainsi, pour la première fois, nous avons l'indication nette de la perturbation *qualitativement* différente et plus profonde qui caractérise la température de 65°, celle où la « sensibilisatrice » est détruite. Phénomène tout différent de celui qui se passe aux environs de 56° et qui atteint les groupes chromophores de la molécule.

Des résultats analogues ont été obtenus, non seulement sur le sérum des mammifères, mais sur celui des oiseaux (poules et coqs). Ils sont beaucoup moins nets dans le cas des reptiles (vipères) et des batraciens. Ce sont ces expériences qui nous

fournirent l'occasion de nous apercevoir que l'amplitude de la courbe en ∽ caractérisant le sérum était toujours moins grande dans le cas des oiseaux que dans le cas des mammifères [1]. La dif-



férence entre les classes est moins marquée, au point de vue de l'amplitude de la courbe, entre les oiseaux, les reptiles et les batraciens. On remarquera le grand nombre de points déterminés pour chaque courbe.

(1) P. et M. Lecomte du Noüy, *C. R. Soc. Biol.*, **116**, p. 308, 1934.

Différence entre sérum et plasma. — Au cours de ces mesures, nous avons pu établir qu'il n'existait pas de différences appréciables entre la courbe d'absorption du sérum et celle du plasma correspondant, en ce qui concerne la place du minimum et du maximum. La moyenne de 6 expériences fournit en effet :

Valeur moyenne de la place du minimum, *d* inférieure aux erreurs d'expérience : Sérum : 2495,83 Å ; Plasma : 2495,46 Å ; $d = 0,67$

Valeur moyenne de la place du maximum, *d* inférieure aux erreurs d'expérience : Sérum : 2761 Å ; Plasma : 2762 Å ; $d = 2$

Nous avons obtenu, pour la densité du minimum (moyenne de 6 expériences) :

Sérum : $\delta = 0,741$
Plasma : $\delta = 0,803$
$d = 0,062$

et pour la densité du maximum, la même valeur $\delta = 0,710$, pour le sérum et le plasma.

Action du vieillissement sur le sérum. — La figure 93 montre qu'en 60 jours, l'aspect des courbes d'absorption ne varie pas d'une façon systématique. Ces courbes représentent les moyennes de 6 expériences. Les courbes représentant les expériences individuelles manifestent des écarts considérables, tantôt dans un sens, tantôt dans l'autre.

Courbe d'absorption du sérum desséché, puis redissous. — La seule différence marquée que nous ayons observée fut, dans tous les cas, un déplacement du minimum vers le visible, pouvant atteindre 50 Å. La moyenne de 6 expériences donne :

Emplacement du minimum : Sérum frais : 2496 Å ; Sérum desséché et redissous : 2524 Å ; $d = 28$

Le maximum est, par contre, bien plus stable, c'est-à-dire que les fluctuations ont lieu dans un sens ou dans l'autre, et sont toujours d'un ordre de grandeur inférieur à celles du minimum.

Emplacement du maximum : Sérum frais : 2765 Å ; Sérum desséché et redissous : 2767 Å ; $d = 2$

*
* *

Il faut avouer que, de tous les phénomènes que nous avons

décrits et qui caractérisent la température critique du sérum, ces derniers sont les seuls qui ne soient pas constants dans tous les cas. Pour des raisons profondes que nous ignorons, et qui tiennent à la structure intime des molécules protido-lipidiques, il arrive, comme nous l'avons signalé, que certains sérums se comportent différemment. Néanmoins, un certain nombre de faits restent nettement acquis ; en particulier, à 65°, et à cette température seulement, le déplacement du minimum vers le visible (dans 79 % des cas) et l'augmentation de la densité du minimum (93 % des cas) et du maximum (79 % des cas). Ce fait seul est important, car il indique l'existence d'une différence spécifique dans le comportement du sérum chauffé au-dessous de 65° et à cette température.

Il est possible d'ailleurs que ce soit simplement la brièveté du chauffage qui empêche ces phénomènes de se manifester identiquement dans 100 % des cas.

*
* *

De tout ce qui précède on peut conclure que tout se passe comme si la destruction du pouvoir complémentaire était corrélative de l'hydratation intramoléculaire qui semble être à la base de tous les phénomènes révélés par nos expériences et décrits dans cet ouvrage. Le pouvoir alexique peut donc, en première analyse, être considéré comme une propriété structurale d'ensemble des groupes chimiques externes déplacés par la pénétration des molécules d'eau, ou comme une propriété chimique détruite par la fixation d'eau, par exemple sur les groupes carbonyles.

Au contraire, la spécificité de groupe ou de type est une propriété plus profonde qui ne peut être altérée que par une énergie cinétique plus grande des molécules d'eau, et qui se manifeste par un léger déplacement du minimum d'absorption (de 2.495 A à 2.506,5 A en moyenne) et par un déplacement de la courbe d'absorption tout entière en hauteur par rapport aux ordonnées (densité optique). Il est impossible, dans l'état actuel de notre ignorance en ce qui concerne les molécules de protéines, de se faire une idée nette de ces phénomènes. C'est malheureusement dans la stéréochimie des protéines que gît l'une des clés

du problème de la défense de l'organisme contre les maladies infectieuses et du problème de la sensibilisation.

Cet exposé de quelques résultats obtenus par une science qui en est à ses débuts suffit à montrer que, si les bénéfices ne sont pas encore bien considérables, aucune autre discipline n'avait permis de les obtenir. Et cette constatation en elle-même est encourageante.

Il importe surtout — et c'est sur ce point que nous insistons tout particulièrement — de ne pas commettre d'erreur d'interprétation et de ne pas croire que parce qu'on emploie des méthodes physiques, les phénomènes observés sont de nature physique. L'hémiédrie est un caractère géométrique, le pouvoir rotatoire est un caractère physique, mais le phénomène basique responsable est un caractère chimique, structural. Il serait imprudent — pour ne pas dire plus — d'attribuer la digestion sélective des protéines lévorotatoires à une propriété physique : et cependant c'est une méthode purement physique qui nous permet de définir et d'étudier ce phénomène. Il en va de même pour d'autres méthodes physiques et physico-chimiques. C'est pour cela que nous avons insisté sur la nature chimique des phénomènes immunologiques, dans nos travaux précédents et dans ceux qui font l'objet de ce livre. Il est établi que certaines actions physiques — l'adsorption par exemple — jouent un rôle dans les réactions d'immunité ; mais le pouvoir adsorbant, l'adsorption sélective, l'adsorption aux interfaces, sont déterminés en fin de compte par la structure des molécules, et il nous semble qu'une distinction arbitraire entre deux classes de phénomènes reposant sur les mêmes bases est plus capable de freiner le progrès que de l'activer, surtout lorsqu'on atteint les frontières si mal délimitées et d'ailleurs artificielles, entre les sciences.

Si l'on est bien convaincu de ce qui précède, et de ce que seuls les faits bien observés et leurs rapports quantitatifs ont une valeur indiscutable, alors, rien ne s'oppose à ce qu'on ait recours à des théories et à des hypothèses, si hardies soient-elles. Elles constituent en effet un outil de travail indispensable qui ne devient dangereux que quand on s'y attache au point d'hésiter à le remplacer par un autre le jour où il ne s'accorde plus avec les faits.

CONCLUSIONS

Il semble qu'on puisse, en faisant abstraction de toute hypothèse, et en ne tenant exclusivement compte que des faits expérimentaux réunis dans cet ouvrage, en tirer quelques conclusions en ce qui concerne le pouvoir complémentaire. Ces conclusions ne permettent pas encore de fournir des données précises sur la nature chimique des éléments d'où dépend le pouvoir alexique : elles permettent néanmoins de concevoir cette propriété comme appartenant aux complexes protido-lipidiques moléculairement dispersés qui constituent le sérum et non pas à un corps séparé. Ces molécules sont constituées d'éléments facilement séparables tels que : albumine, globulines, lipides, etc., éléments clivables suivant des surfaces qui ne sont pas forcément des plans mais plus probablement des surfaces gauches.

En effet, nous avons mis en évidence douze phénomènes distincts, à savoir :

1° Augmentation de la viscosité ;

2° Augmentation du pouvoir rotatoire ;

3° Augmentation de la dispersion rotatoire ;

4° Augmentation de l'absorption de la lumière ;

5° Augmentation de la diffusion de la lumière ;

6° Augmentation du facteur de dépolarisation ;

7° Augmentation de la résistivité électrique ;

8° Augmentation de la concentration en ions hydrogène ;

9° Diminution du pouvoir de fixation d'éther ;

10° Modification de la stabilité et de la sédimentation des globulines ;

11° Modification de la tension interfaciale ;

12° Modification de la courbe d'absorption dans l'ultra-violet.

Dix de ces phénomènes débutent vers 56° pour des chauffages du sérum de l'ordre de 10 minutes en vase clos. La concentration en ions hydrogène, dans le sérum pur, débute généralement vers 60°, et les modifications dans la courbe d'absorption ne sont nettes qu'à 65°, et ne caractérisent pas la « destruction de l'alexine ».

Il se passe donc, aux environs de 55°-56° des modifications profondes dans la structure des protéines et du complexe lipoprotidique. Ces modifications sont maintenant un peu mieux connues par leur influence sur les dix propriétés étudiées. Nous savons d'autre part que cette même température entraîne la destruction d'une propriété particulière du sérum connue sous le nom d'alexine. Il est donc logique d'admettre que la disparition de cette propriété est corrélative des modifications structurales et chimiques déterminées par la chaleur dans l'ensemble de la molécule de sérum. La solution définitive dépend de nos progrès dans la chimie des protéines et des complexes protidiques.

L'hypothèse d'hydratation intra-moléculaire que nous avons proposée a reçu une confirmation imprévue par les expériences de Machebœuf et Basset, qui ont obtenu la coagulation du sérum à froid par la pression (de 11.000 à 13.000 atmosphères). Et les mêmes auteurs, par la méthode des ultra-pressions, arrivent à la même conclusion que nous en ce qui concerne l'existence, en quantité dominante dans le sérum, d'une « molécule de sérum » douée de propriétés immunologiques particulières, propriétés qui sont irrémédiablement détruites si l'on sépare l'albumine des globulines.

C'est dans l'étude systématique de cette grosse molécule complexe et de la fraction globulinique du sérum que se trouvera la solution de tous les problèmes immunologiques.



TABLE DES MATIÈRES

Imp. G. Thone, Liège (Belgique)





ACTUALITÉS SCIENTIFIQUES ET INDUSTRIELLES

PUBLIÉES SOUS LA DIRECTION DE MM.

F. ENRIQUES
De l'Académie « Dei Lincei »
Professeur à l'Université de Rome
PHILOSOPHIE ET HISTOIRE DE LA PENSÉE SCIENTIFIQUE

Ch. FABRY
Membre de l'Institut
Professeur à la Faculté des Sciences
OPTIQUE

E. FAURE-FREMIET
Professeur au Collège de France
BIOLOGIE (Embryologie et Histogenèse)

Ch. FRAIPONT
Professeur à la Faculté des Sciences de Liège
PALÉONTOLOGIE ET LES GRANDS PROBLÈMES DE LA BIOLOGIE GÉNÉRALE

Maurice FRECHET
Professeur à la Sorbonne
ANALYSE GÉNÉRALE

M. L. GAY
Professeur de Chimie-Physique
à la Faculté des Sciences de Montpellier
THERMODYNAMIQUE ET CHIMIE

J. HADAMARD
Membre de l'Institut
ANALYSE MATHÉMATIQUE ET SES APPLICATIONS

Victor HENRI
Professeur à l'Université de Liège
PHYSIQUE MOLÉCULAIRE

A. F. JOFFE
Directeur de l'Institut Physico-Technique de Leningrad
PHYSIQUE DES CORPS SOLIDES

A. JOUNIAUX
Professeur à l'Institut de Chimie de Lille
CHIMIE ANALYTIQUE (Chimie-Physique, minérale et industrielle)

P. LANGEVIN
Membre de l'Institut
Professeur au Collège de France
I. RELATIVITÉ
II. PHYSIQUE GÉNÉRALE

Louis LAPICQUE
Membre de l'Institut
Professeur à la Sorbonne
PHYSIOLOGIE GÉNÉRALE DU SYSTÈME NERVEUX

A. MAGNAN
Professeur au Collège de France
MORPHOLOGIE DYNAMIQUE ET MÉCANIQUE DU MOUVEMENT

Ch. MARIE
Directeur de Laboratoire
à l'Ecole des Hautes Etudes
ÉLECTROCHIMIE APPLIQUÉE

Ch. MAURAIN
Membre de l'Institut
Doyen de la Faculté des Sciences
Directeur de l'Institut de Physique du Globe
PHYSIQUE DU GLOBE

André MAYER
Professeur au Collège de France
Membre de l'Académie de Médecine
PHYSIOLOGIE

Henri MINEUR
Astronome à l'Observatoire de Paris
Maître de Recherches
ASTRONOMIE STELLAIRE

Chr. MUSCELEANU
Professeur à la Faculté des Sciences de Bucarest
PHYSIQUE GÉNÉRALE ET QUANTA

M. NICLOUX
Professeur à la Faculté de Médecine de Strasbourg
CHIMIE ANALYTIQUE (Chimie organique et biologique)

P. PASCAL
Correspondant de l'Institut
Professeur à la Sorbonne et à l'Ecole Centrale des Arts et Manufactures
CHIMIE GÉNÉRALE ET MINÉRALE

Ch. PEREZ
Professeur à la Sorbonne
BIOLOGIE ZOOLOGIQUE

J. PERRIN
Membre de l'Institut
Prix Nobel de Physique
Professeur à la Faculté des Sciences de Paris
ATOMISTIQUE

CATALOGUE SPÉCIAL SUR DEMANDE



Imp. G. Thone, Liège (Belgique)

